



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



Efeito da associação de xilanase e glucanase em dietas à base de milho, trigo e cevada nos índices produtivos de frangos

Isabel de Carvalho Oliveira Tavares

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientadora: Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo.

Juri:

Presidente: Doutor João Pedro Bengala Freire, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor Carlos Mendes Godinho Andrade Fontes, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2013

Aos meus sobrinhos

Agradecimentos

À minha orientadora Doutora Madalena Lordelo um muito obrigado pela sua disponibilidade e acima de tudo pela sua dedicada e paciente orientação.

Aos meus pais, João Carlos Tavares e Maria Camila Oliveira, o meu sincero agradecimento pelo apoio durante este meu percurso académico.

Ao meu irmão Gonçalo Tavares reconheço o apoio demonstrado quer neste trabalho quer em toda a minha breve existência.

Ao meu irmão André Tavares agradeço a paciência durante estes cinco anos de curso.

Aos meus colegas Milene Pereira e Alexandre Roxo obrigado pela amizade e apoio que sempre me concederam.

À minha colega Filipa Duarte muito, mas mesmo muito obrigado pela grande amizade que criamos.

Ao meu amigo Nuno Moreira o meu agradecimento pelo apoio durante a escrita do trabalho.

Ao Eng. Bruno Correia agradeço a ajuda durante o ensaio experimental.

À Eng. Lurdes e à Eng. Patrícia do laboratório Prof. Pais de Azevedo pela colaboração durante a realização do ensaio experimental.

E não esquecendo todos os colegas de curso que me ajudaram durante o ensaio experimental. Foram uma ajuda preciosa. Muito obrigado.

Resumo

O presente estudo teve como objectivo avaliar os efeitos da associação de xilanase e glucanase, em dietas à base de milho, trigo e cevada, nos índices produtivos dos frangos de carne. Para isso 648 pintos do dia, machos, da estirpe ROSS 308, foram utilizados e divididos por 4 tratamentos, cada um com 6 réplicas. Os tratamentos eram constituídos por uma dieta de controlo de elevado conteúdo energético (CP), um controlo negativo de baixo nível energético (CN), um controlo negativo suplementado com a enzima comercial A (CN+A) e um controlo negativo suplementado com a enzima comercial R (CN+R). Ambas as enzimas comerciais eram constituídas por uma mistura de xilanase e glucanase. O ensaio teve a duração de 35 dias, durante os quais o peso vivo e ingestão de alimento foram registados semanalmente. Aos 21 e aos 35 dias foi determinada a viscosidade, e no dia 35 foram também registadas as dimensões dos órgãos do sistema digestivo. As misturas enzimáticas comerciais A e R reduziram a viscosidade intestinal, mas não de forma a se verificarem melhorias evidentes no crescimento ou alterações das dimensões dos órgãos do sistema digestivo.

Palavras – chave: Enzimas; Frangos; Glucanase; Viscosidade intestinal; Xilanase.

Abstract

The goal of the present study was to evaluate the effects of supplementing xylanase and glucanase in maize-wheat-barley-based diets on the performance of broiler chickens. Six hundred and forty eight 1-day-old ROSS 308 male broiler chicks were used and divided into 4 treatments, each with 6 replicate pens. The treatments consisted of a high energy positive control (CP), a low energy negative control (CN), a negative control supplemented with commercial enzyme A (CN+A) and a negative control supplemented with commercial enzyme R (CN+R). Both commercial enzymes were a mixture of xylanase and glucanase. This trial lasted 35 days during which body weight and feed intake were measured on a weekly basis. At 21 and 35 days of age, 2 broilers per pen per day were slaughtered to determine intestinal viscosity. At day 35 the size of the digestive organs was measured. Intestinal viscosity was reduced by the use of the commercial enzymes mixtures, but was not sufficient to alter the size of various digestive organs and to obtain clear improvements in the performance of broilers.

Keywords: Broilers; Enzymes; Glucanase; Intestinal viscosity; Xylanase.

Extended abstract

Wheat and barley are cereals that, unlike maize, contain a high proportion of soluble non starch polysaccharides: arabinoxylans and β -glucans, respectively. These polysaccharides are known to increase intestinal viscosity, reduce absorption of overall nutrients and therefore depress growth in broilers. Beta-glucans and arabinoxylans also produce a sticky and humid excreta that leads to wet litter and the production of wet litter often produces management problems. For example, the production of ammonia and the growth of harmful microorganisms that can compromise the health of broilers chickens and can also cause leg defects on broilers. To reduce these negative effects of arabinoxylans and β -glucans, enzymes are added to the diets. The supplementation of xylanase and glucanase in diets based on wheat and barley are well documented. However, there is not sufficient information about the effect of xylanase and glucanase supplementation in broilers fed a maize-wheat-barley-based diet. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of xylanase and glucanase supplementation on growth performance, intestinal viscosity and sizes of the digestive organs in broilers fed on a maize-wheat-barley-based diet. Six hundred and forty eight 1-day-old ROSS 308 male broiler chicks were used and divided into 4 treatments. The treatments consisted of a high energy positive control diet (CP), a low energy negative control diet (CN), and two negative controls where two commercial enzyme mixtures, A and R, respectively, were added (CN+A and CN+R). Commercial enzyme mixture A was composed of endo-1,4- β -xylanase (EC3.2.1.8) with a specific activity of 12200 U/g and endo-1,3(4)-glucanase (EC3.2.1.6) with a specific activity of 1520 U/g. Commercial enzyme mixture R was composed of endo-1,4- β -xylanase (EC 3.2.1.8) with a specific activity of 1400 AXG/g and endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6) with a specific activity of 2000 AGL/g. Each one of the 4 treatments had 6 replicates and overall there were 24 pens. Body weight and feed intake were measured every week to calculate feed conversion ratio. At 18 days, starter diets were switched to grower diets and body weight and feed intake were also measured. At 21 and 35 days, 2 broilers per pen were slaughtered and digestive content samples from duodenum, jejunum and ileum were collected for viscosity analysis. At 35 days the length of duodenum, jejunum, ileum and cecum and weight of crop, gizzard, liver, pancreas, duodenum, jejunum, ileum and cecum were measured. Statistical analysis was conducted by analysis of variance, using the General Linear Models procedure of SAS. Differences among treatments were considered significant when $P < 0,05$, and a tendency to be significant when $P < 0,1$. Mortality during the trial was low (3,4 %) and

the deaths did not appear to be related to the dietary treatments. Significant differences were not found between body weights of broilers fed the different treatments, except on day 14 when broilers fed the CN+A treatment had a slightly lower weight, but they quickly compensate this weight loss. The same results were found in body weight gain. Feed intake was not significantly different between dietary treatments, except between 14 and 21 days of age when broilers fed the CN+A treatment had a higher feed intake ($P<0,05$) in comparison to the remaining treatments. Between 7 and 14 days, broilers fed with CN+A treatment showed a higher feed conversion ratio ($P<0,05$) and between 14 and 21 days broilers fed the CP and CN+A treatment showed a slightly higher feed conversion ratio ($P<0,05$) in comparison to the remaining treatments. In the starter and grower periods, significant differences were not found on body weight, body weight gain, feed intake and feed conversion ratio between treatments. The digestive content viscosity, at 21 days, collected from duodenum and jejunum was reduced ($P<0,05$) on broilers fed with both diets where enzyme mixture were added (CN+A and CN+R treatments) in comparison to the diets where enzyme mixture were not added. At 35 days, duodenum and jejunum's digestive content viscosity was also lower ($P<0,05$), but similar to the broilers fed with CP treatment. At 21 days, the digestive content of ileum was found to be less viscous ($P<0,1$) in broilers fed the CN+A treatment in comparison to the remaining treatments. At 35 days, broilers fed the CN+A treatment showed lower viscosity ($P<0,05$) of ileum's digestive content in comparison to the broilers fed the CN treatment. No significant differences were found in relative weight of crop, gizzard, liver, pancreas, duodenum, jejunum, ileum and cecum and length of duodenum, jejunum and cecum between treatments. However, ileum relative weight was higher ($P<0,05$) in broilers fed with the diet supplemented with commercial enzyme R (CN+R treatment) in comparison to the remaining treatments. In the present study, it was found that both commercial enzymes reduced intestinal viscosity. However, this reduction was not sufficient to decrease the relative size of several of the digestive organs. One possible explanation is the high incorporation of maize in relation to wheat and barley in the diet, as these cereals have a higher proportion of soluble non starch polysaccharides in comparison to maize.

Índice

Agradecimentos	II
Resumo	III
Abstract	IV
Extended abstract	V
Índice	1
Índice de quadros	3
Índice de figuras	4
Lista de abreviaturas	5
I – Introdução	6
II – Revisão Bibliográfica	7
1. Frangos de carne	7
1.1. Sistema digestivo	7
1.2. Alimentação	11
1.3. Genética	15
2. Polissacáridos não amiláceos	17
2.1. β -glucanos	20
2.2. Arabinoxilanos	20
3. Enzimas	21
3.1. Xilanase e glucanase	25
4. Objectivo	28
III – Materiais e Métodos	29
1. Instalações e aves	29
2. Alimento composto concentrado	30
3. Maneio dos pintos	33
4. Procedimentos analíticos	34
5. Análise estatística	35

IV – Resultados	36
1. Composição dos tratamentos	36
2. Mortalidade	36
3. Peso Vivo	37
4. Ganhos médios de peso	37
5. Alimento ingerido	39
6. Índice de conversão	40
7. Viscosidade do conteúdo digestivo	41
8. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo	43
V – Discussão	45
VI – Conclusão	51
VII – Referências Bibliográficas	52

Índice de quadros

Quadro 1: Composição do grão dos cereais (%) (Adaptado de Blas et al., 2010).....	12
Quadro 2: Energia metabolizável (kcal/kg) presente nos cereais para pintos, dos 0 aos 20 dias, e para frangos, dos 21 aos 42 dias de idade (Adaptado de Blas et al.,2010). ..	12
Quadro 3: Composição química ¹ (%) dos cereais (Adaptado de Blas et al.,2010).....	13
Quadro 4: Composição em aminoácidos dos cereais (Adaptado de Blas et al.,2010). ..	14
Quadro 5: Limites máximos de incorporação (%) nas dietas de frangos de carne (Adaptado de Blas et al., 2010).....	15
Quadro 6: Substrato e matérias-primas em que as diferentes enzimas actuam e os seus efeitos nas aves (Adaptado de Ravindran, 2010).....	22
Quadro 7: Tratamentos testados	30
Quadro 8: Composição dos tratamentos para a fase de iniciação (0 – 18 dias).	31
Quadro 9: Composição dos tratamentos para a fase de crescimento (19 – 35 dias). ..	32
Quadro 10: Composição dos tratamentos ¹ testados.....	36
Quadro 11: Número de frangos mortos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ , para os períodos de iniciação e crescimento.....	36
Quadro 12: Peso vivo dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ (g/ave).	37
Quadro 13: Ganhos de peso semanais dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ (g/ave).....	38
Quadro 14: Ingestão semanal dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ (g/ave).	39
Quadro 15: Índice de conversão dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹	40
Quadro 16: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 21 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos ¹ (cpo).	41
Quadro 17: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 35 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos ¹ (cpo).	42
Quadro 18: Peso relativo dos órgãos do sistema digestivo aos 35 dias de idade dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ (g/kg).	43
Quadro 19: Comprimento relativo dos órgãos do sistema digestivo aos 35 dias de idade dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos ¹ (cm/kg).....	44

Índice de figuras

Figura 1: Sistema digestivo da ave (Retirado de http://otempovida.blogspot.pt/2010_07_18_archive.html)	8
Figura 2: Classificação dos PNA (adaptado de Francesch, 1996)	18
Figura 3: Estrutura química dos β -glucanos presentes na cevada (Retirado de Francesch, 1996)	20
Figura 4: Estrutura química dos arabinoxilanos presentes no trigo (Retirado de Francesch, 1996)	21
Figura 5: Distribuição dos parques na sala	29
Figura 6: Fórmula para a determinação da proteína bruta	35
Figura 7: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 21 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos (cpo)	41
Figura 8: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 35 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos (cpo)	42

Lista de abreviaturas

ADF – Fibra detergente ácido

ADL – Lenhina detergente ácido

Ca - Cálcio

cm – Centímetro

CN – Controlo negativo

CN+A – Controlo negativo suplementado com a mistura enzimática A

CN+R – Controlo negativo suplementado com a mistura enzimática R

CP – Controlo positivo

EB – Energia bruta

EMA – Energia metabolizável aparente

FB – Fibra bruta

FEDNA – Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal

g – Grama

GB – Gordura bruta

H – Humidade

IC – Índice de conversão

kg – Quilograma

MS – Matéria seca

N - Normalidade

NDF – Fibra detergente neutro

PB – Proteína bruta

Pdisp – Fósforo disponível

Ptotal – Fósforo total

pH – Potencial hidroniónico

PNA – Polissacáridos não amiláceos

PV – Peso vivo

SL – Sem limite (limite livre)

I – Introdução

Os cereais são ingredientes de elevada utilização na alimentação das aves. Destes ingredientes o milho tem sido o mais empregue na formulação das dietas. Contudo, nos últimos anos, o aumento da procura deste cereal para diferentes utilizações, como o biodiesel e a escassez de milho nalguns pontos geográficos, pode fazer com que o seu preço aumente consideravelmente. Deste modo, numa tentativa de redução dos custos de produção da carne de frango, iniciou-se a utilização de outros cereais, tais como o trigo, a cevada e o centeio.

Estes cereais têm na sua constituição arabinoxilanos e β -glucanos, que são polissacáridos não amiláceos (PNA) com acção antinutricional, que aumentam a viscosidade do conteúdo digestivo das aves e diminuem a digestibilidade dos nutrientes da dieta. Estas consequências da presença de arabinoxilanos e β -glucanos afectam negativamente o crescimento dos frangos, o que limita o uso do trigo, da cevada e do centeio na formulação das dietas para estas aves.

Enzimas exógenas, nomeadamente a xilanase e a glucanase, contrariam os efeitos negativos dos arabinoxilanos e β -glucanos, uma vez que são enzimas que actuam especificamente nestes compostos. Estas enzimas hidrolisam os arabinoxilanos e os β -glucanos permitindo a redução da viscosidade do conteúdo digestivo, o aumento da digestibilidade dos nutrientes da dieta e consequentemente uma melhoria no crescimento do frango. O efeito da acção de cada uma destas enzimas tem sido estudado exaustivamente ao longo dos anos. Contudo, o efeito da utilização conjunta de xilanase e glucanase em dietas baseadas em milho, trigo e cevada na produção de frangos de carne tem sido pouco estudado.

Assim, este trabalho tem como objectivo avaliar os efeitos da associação de xilanase e glucanase nos índices produtivos de frangos, quando alimentados à base de milho, trigo e cevada.

II – Revisão Bibliográfica

1. Frango de carne

1.1. Sistema digestivo

A dieta do frango é feita à base de ingredientes de diversas origens e de composição química complexa, de modo que este necessita de um sistema digestivo que permita a digestão dos ingredientes e a absorção dos seus nutrientes. O frango possui um sistema digestivo relativamente curto, mas bem adaptado para a transformação das dietas em nutrientes.

O sistema digestivo das aves apresenta diferenças face ao sistema digestivo dos mamíferos, nomeadamente a presença de dentes, lábios e apenas um estômago nos mamíferos face à presença de bico e de dois estômagos consecutivos e distintos nas aves, o proventrículo e a moela (Larbier e Leclercq, 1994). Outra característica única das aves é a existência da cloaca, órgão que actua como recto e saída do sistema urinário e reprodutor.

Nas aves o sistema digestivo desenvolve-se precocemente, visto que o intestino primordial do embrião começa a desenvolver-se a partir do segundo dia de incubação (Larbier e Leclercq, 1994). E continua a desenvolver-se com a idade. No nascimento o sistema gastrointestinal representa cerca de 25 % do peso vivo do animal, mas rapidamente esta percentagem diminui para menos de 5 % às oito semanas de idade.

O sistema digestivo é constituído por vários órgãos e glândulas anexas (Figura 1), cuja acção conjunta permite a digestão do alimento ingerido, a absorção dos nutrientes presentes nos ingredientes e posteriormente o crescimento da ave.

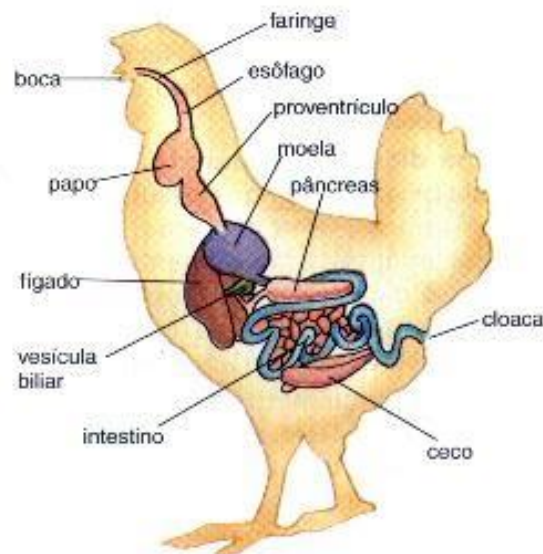


Figura 1: Sistema digestivo da ave (Retirado de http://otempovida.blogspot.pt/2010_07_18_archive.html)

O sistema digestivo da ave inicia-se na cavidade oral, formada pelo bico, a língua, as glândulas salivares e a faringe. O bico, de natureza córnea, é pontiagudo e rígido de modo a apreender o alimento. Este tecido queratinizado cobre duas mandíbulas, uma superior e outra inferior. Na face exterior da mandíbula superior existem as narinas e na face interior da mandíbula inferior está alojada a língua. A língua, rígida e estreita, possui uma forma angular, e assiste a apreensão e a deglutição dos alimentos. No entanto é relativamente pouco móvel, uma vez que o dorso e a ponta são revestidos por um estrato córneo. As glândulas salivares estão presentes em grande número e de forma dispersa pela cavidade bucal (Larbier e Leclercq, 1994). Segundo Afonso (2005), estas glândulas são encontradas no palato, nos ângulos da boca, na língua e na faringe. As glândulas salivares são pouco desenvolvidas, uma vez que as aves não mastigam o alimento. Deste modo a saliva apenas humedece os alimentos, facilitando a sua passagem para a fase seguinte do processo digestivo (Englert, 1982). A saliva produzida pelas glândulas salivares, segundo Larbier e Leclercq (1994), contém iões bicarbonato e amilase, que não têm actividade enzimática significativa, e possui um pH que varia entre 6,7 e 6,9. Após a cavidade oral encontra-se a faringe, que faz a ligação com o esôfago.

O esôfago é um ducto extremamente dilatável, que se localiza entre a faringe e o proventrículo. Segundo Larbier e Leclercq (1994), este ducto é constituído por duas partes, a cervical e a intratorácica, entre as quais se encontra o papo. No esôfago, o alimento desloca-se por meio de contracções, que variam de acordo com a região,

sendo mais rápidas na parte cervical e mais lentas na parte intratorácica (Marques, 1965; Larbier e Leclercq, 1994). O papo actua como um reservatório, que amolece o bolo alimentar através da saliva e de secreções, com pH entre 4,4 e 4,9, das glândulas existentes ao longo do esófago e o armazena enquanto não é recebido pelo proventrículo (Afonso, 2005). Segundo o mesmo autor, esta dilatação do esófago não possui musculatura própria, pelo que são os músculos esqueléticos do pescoço que permitem a progressão do seu conteúdo.

O proventrículo é um órgão fusiforme, que se situa no plano médio do corpo da ave. Corresponde ao primeiro compartimento gástrico, também denominado de estômago químico, uma vez que a digestão neste órgão ocorre devido ao suco gástrico constituído por pepsina e ácido clorídrico (Englert, 1982). Estas substâncias, segregadas pelas glândulas que cobrem as paredes do proventrículo, conferem a este órgão um pH de 4,0. No entanto é um órgão pouco dilatável, de modo que o bolo alimentar permanece nele pouco tempo. Segundo Marques (1965), o bolo alimentar permanece no proventrículo entre alguns minutos a uma hora.

A moela corresponde ao segundo compartimento gástrico, também designado de estômago mecânico, visto que o bolo alimentar é triturado e moído por meio de contracções e expansões (Englert, 1982). Na moela o bolo alimentar continua a sofrer a acção do suco gástrico produzido no proventrículo. O ácido clorídrico desnatura as estruturas terciárias das proteínas, ioniza electrólitos e solubiliza minerais e carbonatos de cálcio e fosfatos (Larbier e Leclercq, 1994). Os mesmos autores referem ainda que a pepsina é responsável pela hidrólise das proteínas, contudo a sua acção inicia-se apenas na moela. Segundo Afonso (2005), a mucosa da moela encontra-se revestida de uma camada córnea espessa, resultando em numerosas rugas, que a protege da acção do ácido clorídrico.

O intestino delgado inicia-se no fim da moela e prolonga-se até à inserção dos cecos. O intestino delgado engloba o duodeno, o jejuno e o íleo, três secções diferenciadas apesar de não possuírem diferenças estruturais significativas. O duodeno possui uma forma de “U”, devido à flexura de cerca de 180 graus das duas ansas que o constituem (Larbier e Leclercq, 1994; Afonso, 2005). Findo o duodeno, onde termina o pâncreas, inicia-se o jejuno, que se prolonga até ao divertículo de Meckel, que constitui uma pequena protuberância no intestino delgado, que corresponde ao vestígio do saco vitelino (Dutra, 2005). No divertículo de Meckel inicia-se o íleo que se prolonga até à inserção dos cecos.

A mucosa intestinal é constituída por três camadas (Larbier e Leclercq, 1994), a interna de natureza glandular com vilosidades; a intermédia com vasos sanguíneos e nervos; a externa constituída por músculo liso, que é responsável pelo movimento intestinal através de contracções peristálticas e segmentares. No intestino delgado dá-se a maior parte da absorção de nutrientes, pelas vilosidades da camada interna da mucosa. Seguidamente os nutrientes absorvidos são transportados para os vasos sanguíneos da camada intermédia, a partir dos quais são distribuídos pelos órgãos e tecidos do organismo.

Após o término do íleo inicia-se o intestino grosso, que engloba os dois cecos, o cólon e termina na cloaca. Segundo Larbier e Leclercq (1994) existe, nos cecos, actividade microbiana e ocorre a hidrólise parcial da celulose e dos PNA. O enchimento dos cecos é efectuado em intervalos regulares, conforme as condições de alimentação *ad libitum*. O esvaziamento ocorre através de contracções no início de cada um dos cecos, que variam conforme o grau de distensão dos mesmos. O cólon, localizado entre a junção íleo-cecal e a cloaca, é responsável pela absorção de água e sais minerais. A cloaca corresponde à saída para o exterior, comum ao sistema digestivo, urinário e reprodutor.

No sistema digestivo é também importante considerar as duas glândulas anexas, o fígado e o pâncreas. O fígado é a glândula responsável pela produção da bÍlis, uma substância esverdeada que emulsiona os lípidos. A bÍlis é conduzida ao duodeno pelo ducto hepático logo após a sua produção ou pelo ducto da vesícula biliar se for previamente armazenada na vesícula biliar (Englert, 1982). A produção da bÍlis desenvolve-se com a idade, de modo que as aves mais jovens têm dificuldades na digestão dos lípidos (Larbier e Leclercq, 1994). O pâncreas encontra-se envolto pelas ansas do duodeno. Esta glândula é responsável pela produção do suco pancreático de pH básico, constituído por bicarbonato de sódio e enzimas como amÍlases, protéases e lípases. O bicarbonato é responsável pela capacidade tampão, que facilita o aumento do pH do quimo proveniente da moela, de modo a garantir a actividade da maior parte das enzimas pancreáticas (Larbier e Leclercq, 1994). As secreções pancreáticas são conduzidas até ao fim do duodeno, início de jejuno, por dois ductos pancreáticos (Englert, 1982).

1.2. Alimentação

O conhecimento das necessidades nutricionais dos frangos é muito importante para garantir uma boa alimentação e por conseguinte a obtenção de uma boa performance. Contudo, as necessidades nutricionais dos frangos são difíceis de estabelecer num valor preciso, pois são afectadas por um conjunto de variáveis. De acordo com os autores Lázaro e Mateos (2008), as necessidades nutricionais variam em função da variabilidade genética entre as estirpes, manejo, meio ambiente e objectivos de produção. No entanto Classen e Stevens (1995), consideram ainda factores, tais como idade, saúde e estado de stress. Na formulação das dietas o alcance dos requisitos nutricionais das aves pode ser difícil, devido às interacções entre os nutrientes, à transferência materna de nutrientes, ao processamento do alimento e seu armazenamento, à variabilidade dos níveis de nutrientes dos alimentos e à disponibilidade dos nutrientes nos ingredientes.

A dieta dos frangos deve fornecer um correcto equilíbrio de energia, proteína e aminoácidos, vitaminas e ácidos gordos essenciais, para que os frangos obtenham uma boa performance e um óptimo crescimento (Aviagen, 2009). Assim, para a formulação das dietas é muito importante ter em conta as necessidades nutricionais da ave, bem como a concentração desses nutrientes nos ingredientes. Para além destes dois critérios também se deve ter em consideração as fases do crescimento das aves.

A ingestão do alimento composto pelo frango depende da formulação do mesmo, bem como da sua apresentação. Segundo Lázaro e Mateos (2008), nos primeiros 25 dias de idade, a dieta em forma de migalha ou farinha melhora o consumo mas nos restantes dias a dieta em forma de granulado favorece o consumo e reduz as perdas de alimento.

De acordo os autores Leeson e Summers (2001), são poucas as matérias-primas utilizadas nas dietas para aves. O milho e a soja são os ingredientes mais utilizados, pois são boas fontes de energia e proteína, respectivamente. A incorporação destas matérias-primas é elevada, chegando a atingir níveis de 70 a 80 % da formulação da dieta (Leeson e Summers, 2001). De modo que o milho e a soja são considerados a base ideal de uma dieta para frangos. Outros ingredientes são também utilizados, mas o seu emprego nas formulações das dietas depende da disponibilidade geográfica e de preço.

Os cereais são ingredientes de elevada palatibilidade, pelo que são bem aceites pelas aves. O grão dos cereais é constituído por gérmen, endosperma e

pericarpo. A percentagem destes três componentes varia com o tipo de cereal, as suas variedade e as condições de crescimento dos cereais (Quadro 1).

Quadro 1: Composição do grão dos cereais (%) (Adaptado de Blas et al., 2010).

	<i>Milho</i>	<i>Trigo</i>	<i>Cevada</i>	<i>Sorgo</i>	<i>Centeio</i>	<i>Aveia</i>
Gérmen	11	2 – 3	3,5	10	3 – 4	3
Endosperma	83	80 – 85	78,5	84	82 – 87	57
Pericarpo	6	13 – 17	18	6	11 – 13	30

O gérmen corresponde ao embrião e aos cotilédones e possui minerais, açúcares, vitaminas e óleos. O endosperma é a camada interna, entre o gérmen e o pericarpo, onde se encontram as reservas nutritivas para o desenvolvimento inicial da planta, nomeadamente as proteínas e o amido. Nalguns cereais o endosperma é coberto por uma camada de células, a aleurona, onde se encontram os pigmentos que conferem a cor aos grãos de cereais. O pericarpo ou casca corresponde à película externa que cobre o grão e o protege da humidade, dos microrganismos e dos insectos. Esta camada externa é rica em fibras, de modo que a sua remoção diminui o teor de fibra dos cereais e consequentemente da dieta.

Em geral os cereais possuem um grande valor energético devido ao seu elevado teor em amido, 51 a 65 %, e baixo teor em fibra, 2,1 a 12,6 %, (Blas et al., 2010). Dos cereais acima referidos o milho é o cereal de maior conteúdo energético, devido ao seu elevado teor em gordura e amido e baixo teor em fibra (Quadro 2).

Quadro 2: Energia metabolizável (kcal/kg) presente nos cereais para pintos, dos 0 aos 20 dias, e para frangos, dos 21 aos 42 dias de idade (Adaptado de Blas et al., 2010).

	<i>Milho</i>	<i>Trigo</i>	<i>Cevada</i>	<i>Sorgo</i>	<i>Centeio</i>	<i>Aveia</i>
Pintos	3180	2890	2510	3060	2530	2300
Frangos	3280	3020	2800	3210	2730	2500

A composição química dos cereais varia consoante as variedades e as condições edafoclimáticas, de modo que no Quadro 3 são apresentados valores médios.

Quadro 3: Composição química¹(%) dos cereais (Adaptado de Blas et al.,2010).

	<i>Milho</i>	<i>Trigo</i>	<i>Cevada</i>	<i>Sorgo</i>	<i>Centeio</i>	<i>Aveia</i>
H	13,8	10,0	9,8	13,0	10,8	10,0
Cinza	1,2	1,6	2,2	1,4	1,6	2,9
PB	7,5	13,8	11,3	8,9	8,7	8,7
FB	2,3	2,9	4,5	2,1	2,2	12,6
NDF	7,9	11,9	17,0	8,0	13,6	31,4
ADF	3,0	3,9	6,3	3,8	3,8	17,4
ADL	0,9	1,3	1,1	0,7	1,1	2,6
GB	3,6	2,0	2,0	2,7	1,3	4,9
Amido	63,3	56,0	51,1	64,8	54,6	36,6
Açúcares	1,7	2,5	1,6	0,8	3,7	1,5
Ca	0,03	0,04	0,06	0,02	0,04	0,08
Ptotal	0,25	0,36	0,32	0,30	0,30	0,33
Pdisp	0,05	0,19	0,12	0,06	0,14	0,09

¹H – Humidade; PB – Proteína bruta; FB – Fibra bruta; NDF – Fibra detergente neutro; ADF – Fibra detergente ácido; ADL – Lenhina detergente ácido; GB – Gordura bruta; Ca – Cálcio; Ptotal – Fósforo total; Pdisp – Fósforo disponível.

As necessidades de fibra bruta dos frangos de carne não são conhecidas ao certo. Porém, sabe-se que as aves possuem um aparelho digestivo preparado para digerir alimentos com certas quantidades de fibra, uma vez que são animais omnívoros (Lázaro e Mateos, 2008).

Os minerais mais importantes a ter em conta na produção de aves são o cálcio e o fósforo, pois têm um papel importante no desenvolvimento das aves. O cálcio é fundamental para a formação do esqueleto e da casca do ovo e o fósforo para o funcionamento das células do organismo e para a formação do esqueleto (Lázaro e Mateos, 2008). Os grãos de cereais são pobres em cálcio e fósforo, o que pode ser um problema nas aves mais jovens, pois a carência destes minerais tem um efeito mais evidente quando as aves se encontram em desenvolvimento. A carência de cálcio reduz a mineralização do esqueleto especialmente nos ossos em que a taxa de crescimento é elevada no momento da carência deste mineral (Larbier e Leclercq, 1994). A deficiência em fósforo está associada à perda de apetite, à redução da taxa de crescimento, a problemas de locomoção e à morte (Larbier e Leclercq, 1994). Por outro lado, quando em excesso estes minerais têm um efeito negativo sobre o consumo de alimento, a qualidade de excreta produzido e os processos de calcificação óssea e de formação da casca do ovo (Lázaro e Mateos, 2008). No entanto, todas estas potenciais deficiências em cálcio e fósforo hoje em dia são colmatadas pelo uso de fontes inorgânicas destes minerais.

Os frangos não possuem necessidades em proteína bruta, mas sim em aminoácidos (Lázaro e Mateos, 2008), de modo que a função da proteína da dieta consiste em fornecer aminoácidos para o crescimento e a manutenção do frango (Classen e Stevens, 1995). A proteína fornece aminoácidos essenciais, que não são produzidos pelo frango, e não essenciais. O teor proteico destes cereais é baixo, variando entre 7,5 e 13,8 % (Blas et al., 2010). A qualidade da proteína é também baixa, pois a sua disponibilidade em aminoácidos é reduzida (Quadro 4).

Quadro 4: Composição em aminoácidos dos cereais (Adaptado de Blas et al., 2010).

	<i>Milho</i>	<i>Trigo</i>	<i>Cevada</i>	<i>Sorgo</i>	<i>Centeio</i>	<i>Aveia</i>
Porcentagem na proteína bruta						
Metionina	2,07	1,49	1,64	1,74	1,68	1,66
Metionina+Cistina	4,29	3,97	3,83	3,58	4,05	4,62
Lisina	2,95	2,69	3,60	2,27	3,75	3,93
Treonina	3,56	2,69	3,31	3,30	3,31	3,33
Triptofano	0,78	1,13	1,20	1,10	1,08	1,33
Isoleucina	3,40	3,69	3,50	3,90	3,30	3,65
Valina	4,75	4,33	4,90	5,05	4,60	4,98
Arginina	4,50	5,10	4,91	3,91	5,00	6,50
Porcentagem no cereal						
Metionina	0,16	0,21	0,19	0,15	0,15	0,14
Metionina+Cistina	0,32	0,55	0,43	0,32	0,35	0,40
Lisina	0,22	0,37	0,41	0,20	0,33	0,34
Treonina	0,27	0,37	0,37	0,30	0,29	0,29
Triptofano	0,06	0,16	0,14	0,10	0,09	0,12
Isoleucina	0,26	0,51	0,40	0,35	0,29	0,32
Valina	0,36	0,60	0,55	0,45	0,40	0,43
Arginina	0,34	0,70	0,55	0,35	0,44	0,57

O trigo, a cevada e o centeio possuem na sua constituição PNA solúveis, nomeadamente arabinoxilanos e β -glucanos. Estes PNA encontram-se na parede celular do endosperma do grão destes cereais (Francesh, 1996; Blas et al., 2010). A presença de arabinoxilanos e β -glucanos aumenta a viscosidade do conteúdo digestivo e dificulta a digestibilidade dos nutrientes em geral. As aves carecem de enzimas endógenas que degradem estes compostos, pelo que têm sido adicionadas enzimas exógenas às dietas, nomeadamente xilanases e glucanases.

De acordo com a composição química de cada um destes cereais, foram formulados limites de incorporação dos mesmos na formulação das dietas para frangos. No Quadro 5 apresentam-se os limites máximos de incorporação destes cereais nas dietas em que não se adicionam enzimas exógenas, para frangos de carne, de acordo com os dados da FEDNA (Blas et al., 2010).

Quadro 5: Limites máximos de incorporação (%) nas dietas de frangos de carne (Adaptado de Blas et al., 2010).

	Milho	Trigo	Cevada	Sorgo	Centeio	Aveia
Iniciação	SL ¹	25	30	30	0	5
Crescimento	SL ¹	30	40	40	5	8

¹SL – Sem Limite (Limite livre)

1.3. Genética

Inicialmente, a selecção de aves através da genética teve como objectivo a obtenção de novos padrões da plumagem e a melhoria da conformação corporal, pois as aves eram criadas para a produção de penas, para artes decorativas e fins culturais, para lutas de galos e para a alimentação humana. Actualmente a selecção tem como principais objectivos o aumento da eficiência da produção de carne e ovos e a diminuição dos custos de produção (Marks, 1995). O aumento da produção de carne é obtido através do aumento da taxa de crescimento juvenil e do peso vivo (PV).

O crescimento é um processo complexo desde a fertilização até à maturidade, pois envolve o desenvolvimento neurológico, a formação do tecido ósseo, do tecido muscular e do tecido adiposo (Chambers, 1990; Marks, 1995). Este processo depende do código genético da ave, do nível da nutrição e dos efeitos do meio ambiente. Na produção de frangos de carne é importante o tempo que decorre entre a eclosão e o alcance do peso de mercado. Dada a curta duração deste período de tempo, o PV a uma idade específica é o indicador para o crescimento mais utilizado (Hunton, 1990; Marks, 1995). Segundo Chambers (1990), o aumento de peso é também um bom indicador da taxa de crescimento dos frangos.

Assim a selecção para um rápido crescimento juvenil é avaliada pelo PV e pelo aumento de peso. Esta selecção teve o efeito desejado, com respostas, positivas e negativas, na expressão de outras características (Chambers, 1990; Marks, 1995), por exemplo alterações do tamanho do corpo e alterações de características anatómicas,

como o tamanho do esqueleto, da massa muscular e dos depósitos de gordura. A principal consequência da rápida taxa de crescimento obtida pela selecção é a elevada correlação genética positiva entre o PV dos jovens e o PV à maturidade, ou seja, ao se obter jovens com maior PV obter-se-á também frangos de maior PV à maturidade.

A selecção para o rápido crescimento juvenil ou para o aumento do PV pode ter como efeitos o aumento das dimensões do esqueleto e do rendimento da carcaça, uma vez que o peso corporal e a dimensão do esqueleto estão relacionados numa base genética. A conformação corporal está também relacionada geneticamente com o PV, dadas as alterações na massa muscular do peito verificadas quando se observa o ângulo e a largura do peito.

Segundo Marks (1995), vários estudos verificaram que a selecção para o rápido crescimento e aumento do PV teve influência na eficiência alimentar, pois esta foi maior nos períodos de crescimento mais curtos obtidos pela selecção face aos períodos de crescimento mais compridos já existentes. Para além deste efeito os animais seleccionados tiveram tendência a ingerir uma maior quantidade de alimento (Classen e Stevens, 1995; Lázaro e Mateos, 2008).

A selecção das aves teve efeitos positivos, como o aumento do rendimento de carcaça e a melhoria da eficiência alimentar, acima referidos. Contudo, também teve efeitos negativos, como o aumento excessivo dos músculos peitorais e a ocorrência de doenças.

Para a obtenção de uma maior proporção de peças nobres foi efectuada uma selecção para o aumento da musculatura do peito. Contudo esta selecção teve consequências negativas, por exemplo a ocorrência de doenças, como a miopatia degenerativa. Os danos causados nos músculos do peito, pela miopatia degenerativa, expressam-se em hemorragia localizada, edema, degeneração e necrose do músculo. Estas consequências foram verificadas principalmente em aves destinadas à produção de carne. A miopatia degenerativa foi primeiramente detectada em perus e posteriormente em frangos, em ambos na idade da reprodução, porém foi verificada uma maior incidência nas fêmeas que nos machos (Marks, 1995). O desenvolvimento desta doença pode ser prevenido se o manejo dos frangos de carne for efectuído de forma a evitar o desnecessário bater das asas.

A selecção para o aumento do PV provoca também um elevado desenvolvimento dos músculos peitorais, de tal forma que impede o acasalamento das

aves. Actualmente, esta incapacidade de acasalar é verificada nos perus, pelo que a sua reprodução se efectua por inseminação artificial. Nos frangos esta situação ainda não se verifica.

Os defeitos nas patas são um problema na produção dos frangos de carne, pois dificultam a mobilidade dos frangos e consequentemente reduzem a ingestão de alimento e o crescimento da ave. Os frangos que exibem estes defeitos não são incluídos no programa de reprodução, todavia este problema continua a existir, o que sugere que os defeitos nas patas podem ter por base uma predisposição genética (Hunton, 1990).

Apesar dos vários efeitos negativos acima mencionados, os avanços genéticos no bem-estar, saúde das patas, fitness cardiovascular e robustez permitiram uma melhoria nas características comerciais de maior importância, como o índice de conversão (IC) e o rendimento em carne (Aviagen, 2009). Contudo o alcance do potencial genético inerente à ave depende de vários factores (Aviagen, 2009), tais como o fornecimento dos nutrientes requeridos através da correcta formulação da dieta e do fornecimento de alimento e água, o ambiente controlado de modo a garantir os requisitos de qualidade do ar, temperatura e espaço, a prevenção, detecção e tratamento de problemas de saúde e a atenção ao bem-estar animal.

2. Polissacáridos não amiláceos

A fracção fibrosa dos cereais possui um efeito negativo na digestibilidade dos nutrientes, sobretudo da energia e da proteína, o que prejudica a eficácia alimentar dos animais e consequentemente o seu crescimento. Por este motivo as dietas de iniciação dos frangos, quando o seu sistema digestivo não se encontra totalmente desenvolvido, são baseadas em cereais de quantidade limitada de fibra (Mateos et al., 2002). Porém o termo fibra bruta inclui um grande número de compostos, como a hemicelulose e a celulose, de modo que após vários estudos se começou a usar o termo PNA.

Os PNA correspondem a hidratos de carbono presentes na parede celular do endosperma dos grãos de cereais (Francesch, 1996). Estes polissacáridos estão presentes em cereais como o trigo, a cevada, a aveia, o centeio e o triticale; mas pouco contribuem para o valor nutricional do ingrediente (Leeson e Summers, 2001). A concentração destes factores antinutricionais nos cereais é variável, dependendo de factores genéticos, ambientais e de cultivo.

Os PNA podem ser solúveis ou insolúveis em água (Figura 2), sendo os solúveis os mais problemáticos para as aves (Mateos et al., 2002), dadas as suas características antinutricionais.

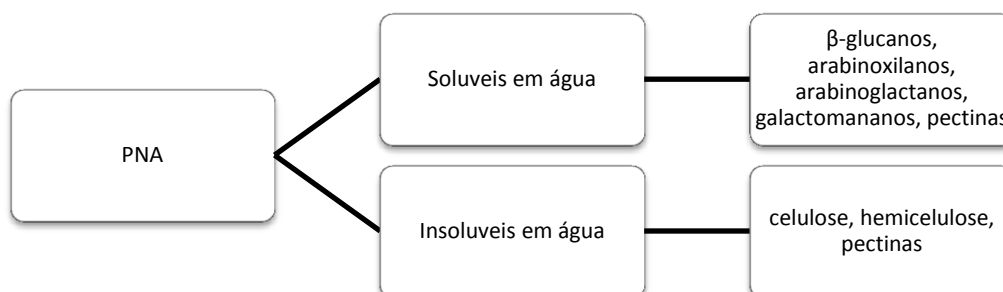


Figura 2: Classificação dos PNA (adaptado de Francesch, 1996)

Os compostos PNA insolúveis em água correspondem aos constituintes da parede celular, nomeadamente a celulose, a hemicelulose e as pectinas. A celulose é difícil de degradar, mas a hemicelulose e pectina são mais facilmente fermentáveis. Dos compostos solúveis em água os β -glucanos e os arabinoxilanos são os principais PNA presentes nas paredes celulares dos cereais. Como já referido, os PNA solúveis são os mais problemáticos para as aves, uma vez que são solubilizados no intestino delgado tornando o conteúdo digestivo viscoso.

O conteúdo digestivo viscoso, segundo vários investigadores, provoca uma série de reacções que afectam negativamente o crescimento dos frangos (Marquardt et al., 1996; Leeson e Summers, 2001; Yu et al., 2002; Gao et al., 2008). Essas reacções seguem a seguinte sequência:

- 1) Menor mistura do conteúdo digestivo;
- 2) Menor contacto entre os nutrientes do substrato e a correspondente enzima digestiva;
- 3) Menor transporte de nutrientes para os epitélios do intestino;
- 4) Menor absorção de nutrientes;
- 5) Redução da digestibilidade de todos os nutrientes da dieta;
- 6) Aumento do tamanho relativo do sistema gastrointestinal;
- 7) Produção de um excreta pegajoso e húmido.

Os PNA reduzem a digestibilidade dos nutrientes da dieta e logo reduzem o valor energético da mesma. Os nutrientes mais afectados são o amido, a proteína e os

lípidos. Ao reduzir a digestibilidade destes nutrientes, a energia metabolizável disponível para a ave é também diminuída.

A produção de um excreta pegajoso e húmido leva a que se obtenham camas húmidas, o que constitui um problema na produção de aves, pois implica um aumento da produção de amoníaco, que acima de certos níveis é prejudicial (Marquardt et al., 1996; Yu et al., 1998 e 2002). Um excreta pegajoso e húmido também pode provocar problemas de patas nas aves, que vão dificultar a sua mobilidade e consequentemente reduzir a ingestão de alimento pelo animal. Assim estes animais terão um crescimento reduzido.

Para além destes efeitos, o aumento da viscosidade do conteúdo digestivo afecta a presença microbiana no intestino (Marquardt et al., 1996; Gao et al., 2008). Segundo os autores Gao et al. (2008), a elevada viscosidade reduz a velocidade da passagem do conteúdo digestivo, modificando drasticamente o equilíbrio microbiano no intestino devido à diminuição da tensão de oxigénio no intestino delgado e à introdução de um ambiente relativamente estável para a microflora fermentativa se estabelecer. Isto provoca a multiplicação da microflora intestinal e consequentemente o aumento da produção de ácidos gordos voláteis e de ácido láctico (Gao et al., 2008), que fornecem energia ao hospedeiro, contudo não é o método mais eficiente de extrair energia do amido e de outros açúcares metabolizáveis (Bedford e Schulze, 1998). Os mesmos autores ainda acrescentam que o aumento do crescimento de bactérias no intestino delgado afecta negativamente a saúde intestinal e resulta na redução da digestão das gorduras, pois as bactérias degradam os sais biliares necessários à emulsão das gorduras.

Os efeitos internos da ingestão de PNA provocam a redução dos ganhos de peso e da eficiência da utilização do alimento, para além de alterações comportamentais, tais como a redução da ingestão de alimento e o aumento da ingestão de água (Marquardt et al., 1996), obtendo-se assim animais mais pequenos.

As matérias-primas, principalmente as que contêm factores antinutricionais, ao longo do processamento do alimento são submetidas a altas temperaturas. A aplicação de calor durante o processo de granulação é efectuada com o objectivo de compactar as farinhas, reduzir o desperdício da dieta e melhorar a produtividade do frango. Segundo Mateos et al. (2002), o processamento térmico altera a estrutura química dos grânulos de amido e da proteína, bem como as propriedades físicas da fibra, facilitando o acesso das enzimas digestivas e exógenas a esses nutrientes. A gelatinização do amido provocada por este processo conduz a alterações no local de

digestão do mesmo, o que pode afectar o crescimento da população microbiana benéfica.

2.1. β -glucanos

Os β -glucanos são PNA solúveis em água presentes em cereais como a cevada, a aveia e o centeio. A sua estrutura química é semelhante à da celulose, com excepção das ligações químicas. Segundo Francesch (1996), este composto é constituído por unidades de glicose unidas por ligações β (1-4), intercaladas por ligações β (1-3) (Figura 3). As ligações β (1-3) quebram a linearidade da molécula, favorecendo a sua solubilidade e consequentemente a formação de soluções viscosas.

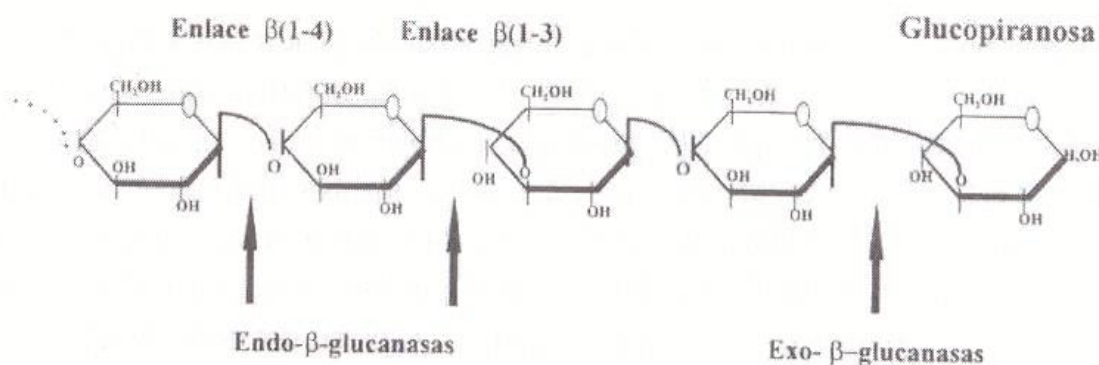


Figura 3: Estrutura química dos β -glucanos presentes na cevada (Retirado de Francesch, 1996)

A adição da enzima glucanase contraria os efeitos negativos dos β -glucanos, através da diminuição do seu grau de polimerização, o que contribui para a diminuição da viscosidade do conteúdo digestivo (Francesch, 1996).

2.2. Arabinoxilanos

Os arabinoxilanos correspondem a PNA solúveis presentes em cereais como o trigo, o centeio e o triticale. A sua estrutura química é mais complexa que a dos β -glucanos e é constituída por dois tipos de açúcares, a xilose e a arabinose. Segundo Francesch (1996), os arabinoxilanos são polímeros lineares de longitude variável, formados por unidade de D-xilose unidas por ligações β (1-4) com ramificações de unidades de arabinose nas posições 2 e 3 (Figura 4). A solubilidade desta molécula é

obtida pelas ramificações de arabinose, uma vez que sem elas os polímeros de xilose poderiam ligar-se entre si, formando agregados de peso molecular elevado e precipitar.

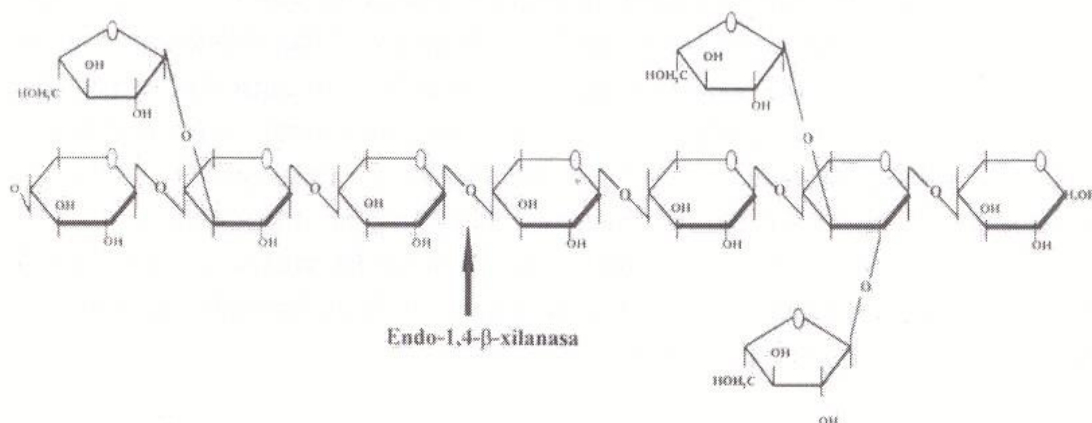


Figura 4: Estrutura química dos arabinoxilanos presentes no trigo (Retirado de Francesch, 1996)

A adição da enzima xilanase contraria os efeitos negativos dos arabinoxilanos, através da diminuição do seu grau de polimerização. (Francesch, 1996).

3. Enzimas

Desde há muitos anos que se conhecem os efeitos positivos da utilização de enzimas exógenas no aproveitamento dos nutrientes e nos índices produtivos das aves. No entanto apenas nas últimas décadas se começou a compreender melhor a composição química dos substratos, pelo que se tornou possível a síntese de enzimas especializadas para determinado substrato (Ravindran, 2010).

Na produção avícola as enzimas exógenas têm sido adicionadas à dieta com o objectivo de reduzir o efeito dos factores antinutricionais dos substratos, melhorar a digestibilidade dos nutrientes (Leeson e Summers, 2001; Mateos et al., 2002; Ravindran, 2010) e melhorar o consumo de alimento, bem como o aumento de peso e diminuição do IC, para assim se obter um maior rendimento do animal (Ravindran, 2010).

Actualmente, na alimentação animal, existe uma vasta gama de enzimas exógenas (Quadro 6), orientadas a diferentes substratos. A crescente aplicação destas enzimas no sector avícola tem levado a um crescente avanço tecnológico na síntese

de enzimas, de modo que a sua produção a um preço mais económico é agora possível. Existe assim mais uma justificação para o uso das enzimas exógenas nas fórmulas das dietas.

Quadro 6: Substrato e matérias-primas em que as diferentes enzimas actuam e os seus efeitos nas aves (Adaptado de Ravindran, 2010)

	<i>Enzima</i>	<i>Substrato</i>	<i>Matéria-prima</i>	<i>Efeitos</i>
Carbohidrases	Xilanases	Arabinoxilanos	Trigo, centeio, tritcale, cevada	Menor viscosidade do conteúdo digestivo.
	glucanases	β -glucanos	Cevada, aveia, centeio	Menor viscosidade do conteúdo digestivo; Redução da humidade das camas.
	Amilases	Amido	Grãos de cereais e de leguminosas	Suplementação das enzimas endógenas; Degradação mais eficaz do amido.
	Celulases, hemicelulases e pectinases	Compostos fibrosos das paredes celulares	Todas as de origem vegetal.	Melhor utilização dos nutrientes;
	Fitases	Ácido fítico	Alimentos de origem vegetal	Melhor utilização do fósforo; Redução do ácido fítico.
	Proteases	Proteínas	Todas as que são fonte de proteína vegetal	Suplementação das enzimas endógenas; Degradação mais eficaz das proteínas.
	Lípases	Lípidos	Lípidos dos alimentos e suplementos lipídicos	Melhor utilização das gorduras;

As carbohidrases constituem um grupo de enzimas cuja acção é direccionada para os hidratos de carbono. As mais utilizadas na alimentação de frangos são as xilanases e as glucanases, que hidrolisam PNA presentes nos cereais, nomeadamente os arabinoxilanos e os β -glucanos, respectivamente. A acção das carbohidrases nos cereais resulta no aumento da digestibilidade dos nutrientes, o que direcciona a digestão e absorção do amido e da proteína para uma parte mais anterior do intestino (Bedford, 2000).

As fitases são utilizadas na alimentação animal para reduzir a indigestível molécula de ácido fítico, uma vez que o fósforo orgânico se encontra na forma de ácido fítico e as aves não possuem fitases endógenas. As aves apenas conseguem aproveitar o fósforo inorgânico, de modo que a adição de fitases permite às aves aproveitar o fósforo orgânico e assim reduzir o desperdício de fósforo no excreta. As

lipases são enzimas que degradam os lípidos, mais especificamente as gorduras saturadas (Leeson e Summers, 2001). As aves jovens têm dificuldade em digerir as gorduras saturadas, pelo que as lipases têm sido adicionadas aos regimes alimentares de iniciação. As proteases são utilizadas para melhorar a digestão das proteínas de animais monogástricos. De acordo com os investigadores Yu et al. (2007), esta enzima aumenta a taxa de utilização da proteína, permitindo diminuir a percentagem proteica das dietas de frangos de carne, o que reduz o desperdício de proteína e a quantidade de azoto excretada para o ambiente.

No Quadro 6 são também referidos os efeitos das enzimas quando suplementadas em dietas com os seus ingredientes alvo. No entanto, o modo de acção das enzimas não é ainda totalmente conhecido. Diferentes enzimas terão diferentes modos de actuação e segundo Ravindran (2010), um ou mais dos seguintes mecanismos pode ser responsável pelos efeitos mencionados.

- Degradação de ligações específicas dos ingredientes que não são correctamente hidrolisados pelas enzimas endógenas;
- Degradação de factores antinutritivos que diminuem a digestibilidade e/ou aumentam a viscosidade do alimento;
- Ruptura da parede celular e libertação dos nutrientes ligados à parede;
- Alteração da digestão de nutrientes para locais mais eficientes;
- Redução das secreções e das perdas de proteínas endógenas no intestino, reduzindo as necessidades de manutenção;
- Redução do peso relativo do intestino e alterações na morfologia intestinal;
- Alterações no perfil da microflora do intestino delgado e grosso. As enzimas possuem uma influência directa sobre a quantidade e forma dos substratos presentes no sistema digestivo, assim a utilização das enzimas exógenas tem um impacto directo nas populações microbianas do intestino;
- Aumento das enzimas digestivas, que são insuficientes ou inexistentes no animal, resultando numa melhor digestão. Especialmente nos animais jovens, com sistemas digestivos menos desenvolvidos.

Segundo Bedford e Cowieson (2012), a adição de enzimas exógenas à dieta influencia a microflora intestinal, através da melhoria da disponibilidade de nutrientes para o hospedeiro e do fornecimento de oligossacáridos fermentáveis, no caso das carbohidrases.

Os efeitos da suplementação enzimática são variáveis, podendo depender de factores como a qualidade da dieta, o nível de incorporação do ingrediente alvo e a idade das aves (Marquardt et al., 1996; Ravindran, 2010). As dietas de menor qualidade, ou seja, com níveis de PNA mais elevados, apresentam melhorias de maior magnitude. O mesmo se verifica com o aumento da inclusão dos ingredientes alvo, dado que o conteúdo em factores antinutricionais aumenta proporcionalmente. As enzimas possuem uma melhor resposta nas aves mais jovens, visto que possuem um sistema digestivo menos desenvolvido que os adultos. As aves mais jovens têm dificuldades em digerir a gordura, o amido e a fibra, de modo que a ajuda suplementar das enzimas exógenas minimiza a quebra de crescimento.

Os factores acima considerados influenciam a eficácia das enzimas. No entanto é também importante que as enzimas sejam estáveis, isto é, que sejam capazes de resistir e conservar a sua actividade após o processo de fabrico e da digestão do alimento (Francesch, 1996; Leeson e Summers, 2001). As enzimas, na sua maioria, são estáveis à temperatura ambiente, mas a temperaturas superiores a 60 – 70 °C são inactivadas (Campbell, 1993; Francesch, 1996; Ravindran, 2010). Na presença de uma humidade relativa superior a 15 % as enzimas perdem também estabilidade, uma vez que são parcialmente hidratadas (Campbell, 1993). Deste modo é difícil que as enzimas mantenham a sua actividade após o processo de granulação, onde se atinge uma temperatura de cerca de 85 °C e uma humidade relativa de 17 a 18 %. Nesta situação, para que as enzimas mantenham a sua actividade enzimática, é necessário que sejam pulverizadas após este processo, contudo se as enzimas forem estáveis nestas condições podem ser adicionadas na fase da mistura dos ingredientes. Durante o processo digestivo as enzimas estão também sujeitas a condições de pH variáveis, que as podem inactivar. Deste modo é importante que as enzimas não sejam inactivadas pelas alterações de pH da moela, para que estejam activas no intestino, onde os nutrientes são absorvidos (Leeson e Summers, 2001). Segundo Francesch (1996), o ataque de enzimas proteolíticas próprias do animal, nomeadamente pepsina e pancreatina, também pode inactivar as enzimas exógenas adicionadas à dieta.

As enzimas têm tido um grande impacto na produção animal, contudo ainda não são aproveitadas em todo o seu potencial. De acordo com o autor Ravindran (2010), o conhecimento que se tem da composição química dos substratos possíveis das enzimas é ainda escasso. Se for melhorado este conhecimento, poder-se-ão desenvolver novos processos de degradação dos substratos e assim aumentar a eficácia das enzimas. A obtenção de enzimas estáveis a temperaturas superiores a

70 °C (Campbel, 1993; Ravindran, 2010) é um campo que ainda necessita de estudo. Assim, é ainda necessário uma maior evolução para que se obtenha a enzima ideal. Segundo Ravindran (2010), a enzima ideal deve possuir “uma alta capacidade catalítica específica; boa termoestabilidade; elevada actividade num amplo intervalo de pH digestivo e boa estabilidade à temperatura ambiente”.

3.1. xilanase e glucanase

A xilanase e a glucanase são enzimas pertencentes à classe das carbohidrases, que têm por finalidade hidrolisar os arabinoxilanos e os β -glucanos, respectivamente. Estas enzimas são obtidas a partir de fungos e bactérias.

O efeito da xilanase tem sido alvo de vários estudos em frangos de carne, principalmente quando adicionada a dietas à base de trigo. Tendo por base vários estudos efectuados, a hidrólise dos arabinoxilanos pela xilanase resulta na diminuição da viscosidade do conteúdo digestivo (Steenfeldt et al., 1998a; Wang et al., 2005; Gao et al., 2008). Gao et al. (2008) verificaram uma redução da viscosidade do conteúdo digestivo no proventrículo e no jejuno aos 21 dias e no cólon aos 49 dias de idade do frango. O pH do conteúdo digestivo em vários órgãos também sofre alterações. Gao et al. (2008) verificaram um aumento do pH no papo, duodeno e jejuno aos 21 dias e uma diminuição no ceco aos 49 dias de idade dos frangos. O que indica que a fermentação é inibida no intestino delgado e aumenta no ceco, aumentando a concentração de ácidos gordos voláteis no ceco. Estes autores atribuem estes efeitos às alterações da microflora intestinal provocadas pela suplementação enzimática. Relativamente à energia, a suplementação da dieta com xilanase aumenta a disponibilidade da energia metabolizável aparente (Campbell, 1993; Steenfeldt et al. 1998b; Yang et al., 2010).

A glucanase também tem sido alvo de vários estudos em frangos de carne, principalmente quando adicionada a dietas à base de cevada. A redução da viscosidade do conteúdo digestivo é um dos efeitos do uso da glucanase (Esteve-Garcia et al, 1997; Yu et al., 1998 e 2002; Bergh et al., 1999). Segundo os investigadores Yu et al. (2002), a suplementação com glucanase provoca um aumento da digestão das gorduras durante o crescimento e um aumento do conteúdo em ácidos gordos voláteis no ceco durante o acabamento. Esta enzima também aumenta a digestibilidade dos nutrientes (Rotter et al., 1990; Bergh et al., 1999; Yu et al. 2002) e diminui o peso relativo de alguns órgãos do sistema digestivo (Yu et al., 2002). No

entanto Yu et al. (1998) não verificaram alterações no peso relativo dos órgãos do sistema digestivo, ao suplementar uma dieta à base de cevada com glucanase.

Estas enzimas também têm um efeito positivo quando suplementadas em dietas à base de milho e soja (Cowieson et al., 2006 e 2010). Contudo, segundo Rosen (2002), a magnitude da resposta à suplementação enzimática é inferior à que seria esperada em dietas à base de trigo. Esta diferença na resposta é atribuída à menor concentração de PNA existente no milho, relativamente ao trigo (Choct, 2006; Cowieson et al., 2006).

A acção conjunta da xilanase e da glucanase tem sido alvo de estudos na produção avícola e na produção suína. Segundo Yin et al. (2001), a suplementação de preparados de glucanase e xilanase em dietas à base de cevada descascada, para leitões desmamados, resultou na redução da viscosidade do conteúdo digestivo na parte distal do intestino delgado. No entanto os efeitos variaram com a idade. Foi também observada uma melhoria na digestibilidade da energia e dos aminoácidos (Yin et al., 2001).

Na produção de perus, Mathlouthi et al. (2003a) demonstraram que a viscosidade do conteúdo digestivo era reduzida quando se suplementava uma dieta à base de trigo e cevada com xilanase e glucanase. No entanto é importante referir que este efeito benéfico da adição de enzimas às dietas foi obtido utilizando perus jovens, com menos de 10 semana de vida.

Na produção de galinhas poedeiras Mourão et al. (2006) suplementaram uma dieta de luzerna e centeio com glucanase e xilanase. A luzerna é uma boa fonte de xantofilas, importantes para a obtenção da cor amarela dos ovos, contudo possui um elevado teor em fibra, pelo que a sua incorporação na dieta deve ser limitada. De acordo com o resultado deste estudo a suplementação enzimática não melhora o valor nutritivo da luzerna. Mathlouthi et al. (2003b) demonstraram que a performance de galinhas poedeiras é beneficiada pela suplementação enzimática de xilanase e glucanase. A performance foi melhorada e a viscosidade do conteúdo digestivo reduzida pela adição destas enzimas em dietas à base de trigo e cevada. Estes autores referem ainda que a melhoria associada à adição destas enzimas foi superior nas dietas à base de cereais viscosos, trigo e cevada, que nas dietas à base de milho. Segundo Cowieson et al. (2006), esta diferença ocorre devido à maior quantidade de PNA existente na constituição do trigo e da cevada.

Na produção de frangos de carne a acção conjunta da glucanase e xilanase tem vindo a ser estudada. Os investigadores Yu e Chung (2004) suplementaram uma dieta à base de milho e bagaço de soja com uma mistura enzimática constituída por α -amilase, glucanase e xilanase. A adição destas enzimas na dieta com menos de 3 % de energia metabolizável que a dieta controlo permitiu a obtenção de uma performance de crescimento muito semelhante ao obtido na dieta controlo.

Cowieson et al. (2010) avaliaram a interacção entre glucanase e xilanase numa dieta à base de milho e soja. Estes autores criaram um controlo positivo, de elevado nível energético, e um controlo negativo de menor nível energético. Com base no controlo negativo formularam mais dietas, que suplementaram com xilanase e glucanase isolada ou simultaneamente. A suplementação isolada ou simultânea destas enzimas melhora o IC significativamente, comparativamente ao controlo negativo. Relativamente à digestibilidade ileal dos nutrientes, tanto a suplementação individual como a suplementação simultânea destas enzimas, resultaram numa melhor digestibilidade. Contudo, em ambos os parâmetros, o efeito da acção simultânea das enzimas foi inferior à soma dos efeitos individuais (Cowieson et al., 2010). No entanto, segundo as conclusões dos autores, é mais vantajoso suplementar dietas à base de milho e soja com xilanase e glucanase simultaneamente.

Na produção de aves, a suplementação de xilanase e glucanase em dietas baseadas em trigo, cevada, centeio e tritcale tem demonstrado ser eficaz na melhoria de vários parâmetros de performance. No entanto, segundo Cowieson et al. (2006), os efeitos destas enzimas não são consistentes e variam com a qualidade dos ingredientes, a idade da ave, a natureza da microflora intestinal ou com o ambiente em que os animais são criados.

4. Objectivo

Os β -glucanos e os arabinoxilanos dos cereais são compostos com efeitos prejudiciais para a produção avícola pois, como já referido anteriormente, afectam negativamente o crescimento dos frangos. As enzimas glucanase e xilanase hidrolisam estes compostos contrariando a sua acção antinutricional. Os efeitos da suplementação com glucanase e xilanase de dietas à base de cevada e trigo, respectivamente, têm sido alvo de inúmeras investigações. Contudo, não existem actualmente referências suficientes ao efeito da suplementação de preparados

enzimáticos, contendo glucanase e xilanase, em dietas de milho, trigo e cevada para frangos de carne.

Neste estudo é esperado que o uso de xilanase e glucanase reduza a viscosidade do conteúdo digestivo, o tamanho dos órgãos do sistema digestivo e conduza a uma melhoria dos índices zootécnicos.

III – Materiais e Métodos

1. Instalações e aves

O ensaio foi realizado numa sala destinada à investigação avícola das instalações da Secção de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia.

A sala, de 80 m², com temperatura e ventilação controladas durante os 35 dias de duração do ensaio, estava equipada com 24 parques 2 m² cada, conforme a Figura 5.

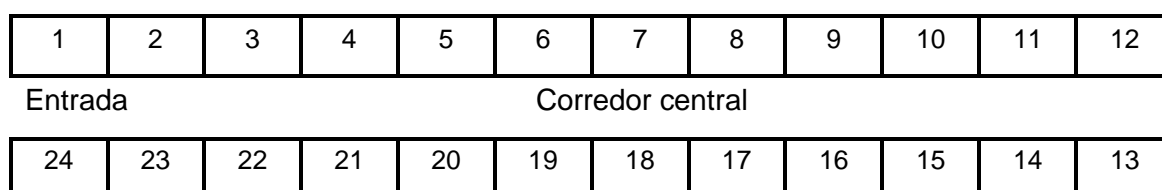


Figura 5: Distribuição dos parques na sala

Cada parque possuía um comedouro de altura ajustável. Os 12 parques de cada lado da sala possuíam uma linha de água comum e cada parque dispunha de 5 pipetas. Para o aquecimento foram utilizadas lâmpadas de aquecimento de 150 W, uma para cada parque, e cinco caloríficos.

A sala foi limpa, desinfetada e aquecida 24 horas antes da chegada dos pintos, de modo a que a temperatura ambiente fosse entre os 27-28 °C. Vinte e quatro horas antes da chegada dos pintos foi colocada uma altura de 12 cm de aparas de madeira em cada parque. No mesmo período foram também colocadas identificações conforme o tratamento que os pintos iriam receber e os comedouros foram enchidos.

Relativamente aos animais seleccionados para este ensaio, foram utilizados 648 pintos do dia, machos, da estirpe Ross 308.

2. Alimento composto concentrado

Neste estudo foram testados quatro tipos de tratamentos (Quadro 7).

Quadro 7: Tratamentos testados

<i>Tratamento</i>	<i>Designação</i>
CP	Controlo positivo
CN	Controlo negativo
CN+A	Controlo negativo suplementado com a enzima A ¹
CN+R	Controlo negativo suplementado com a enzima R ²

¹Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

²Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

Os tratamentos foram divididos em duas fases: fase de iniciação dos 0 aos 18 dias de idade e a fase de crescimento dos 19 aos 35 dias de idade. Deste modo foram fabricadas duas variantes de cada um dos tratamentos, de acordo com as formulações apresentadas nos Quadros 8 e 9. Foram efectuadas 6 repetições de cada tratamento e distribuídas de forma aleatória.

Quadro 8: Composição dos tratamentos para a fase de iniciação (0 – 18 dias).

Ingrediente (%)	Iniciação ¹			
	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³
Milho	40,875	42,660	42,650	42,655
Bagaço de Soja 48	31,150	30,850	30,850	30,850
Trigo	10,000	10,000	10,000	10,000
Cevada	5,000	5,000	5,000	5,000
Grão de Soja Extrudido	5,000	5,000	5,000	5,000
Óleo de Soja	3,375	1,900	1,900	1,900
Fosfato Bicálcico	2,510	2,510	2,510	2,510
Carbonato de Cálcio	0,628	0,613	0,613	0,613
Premix	0,500	0,500	0,500	0,500
Bicarbonato de Sódio	0,300	0,300	0,300	0,300
DL Metionina	0,260	0,260	0,260	0,260
Lisina HCL	0,210	0,215	0,215	0,215
Cloreto de Sódio	0,192	0,192	0,192	0,192
A ²	-	-	0,010	-
R ³	-	-	-	0,005
Composição nutricional ⁴				
EM (Kcal/kg)	2985	2900	2900	2900
MS (%)	87,40	87,20	87,20	87,20
PB (%)	21,50	21,50	21,50	21,50
Lisina (%)	1,35	1,35	1,35	1,35
Metionina (%)	0,58	0,58	0,58	0,58
Aminoácidos Sulfurados (%)	0,97	0,97	0,97	0,97
Cálcio (%)	1,06	1,06	1,06	1,06
Fósforo disponível (%)	0,43	0,43	0,43	0,43

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

⁴Composição nutricional baseada nos dados do NRC (1994).

Quadro 9: Composição dos tratamentos para a fase de crescimento (19 – 35 dias).

<i>Ingrediente (%)</i>	<i>Crescimento¹</i>			
	<i>CP</i>	<i>CN</i>	<i>CN+A²</i>	<i>CN+R³</i>
Milho	42,750	44,450	44,440	44,445
Bagaço de Soja 48	21,950	21,700	21,700	21,700
Trigo	10,000	10,000	10,000	10,000
Cevada	5,000	5,000	5,000	5,000
Grão de Soja Extrudido	13,000	13,000	13,000	13,000
Óleo de Soja	3,450	2,000	2,000	2,000
Fosfato Bicálcico	2,230	2,230	2,230	2,230
Carbonato de Cálcio	0,305	0,302	0,302	0,302
Premix	0,500	0,500	0,500	0,500
Bicarbonato de Sódio	0,250	0,253	0,253	0,253
DL Metionina	0,220	0,220	0,220	0,220
Lisina HCL	0,145	0,145	0,145	0,145
Cloreto de Sódio	2,000	2,000	2,000	2,000
A ²	-	-	0,010	-
R ³	-	-	-	0,005
Composição nutricional ⁴				
EM (Kcal/kg)	3150	3065	3065	3065
MS (%)	87,35	87,15	87,15	87,15
PB (%)	20,00	20,00	20,00	20,00
Lisina (%)	1,22	1,22	1,22	1,22
Metionina (%)	0,53	0,53	0,53	0,53
Aminoácidos Sulfurados (%)	0,89	0,89	0,89	0,89
Cálcio (%)	0,86	0,86	0,86	0,86
Fósforo disponível (%)	0,39	0,39	0,39	0,39

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

⁴Composição nutricional baseada nos dados do NRC (1994).

O tratamento CP é um alimento de elevado nível de energia, onde não houve adição de enzimas. O tratamento CN é um alimento menos energético, com menos 3 % de energia metabolizada que o tratamento CP. Neste tratamento também não foram adicionadas enzimas. A partir do tratamento CN foram desenvolvidos dois

tratamentos, o CN+A e o CN+R, em que se adicionou uma mistura enzimática. O tratamento CN+A foi suplementado com a mistura enzimática A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6). A xilanase e a glucanase da mistura enzimática A foram obtidas a partir do fungo *Trichoderma reesei*. O tratamento CN+R foi suplementado com a mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6). A xilanase e a glucanase desta mistura enzimática foram obtidas a partir do fungo *Penicillium funiculosum*.

Os alimentos compostos acima mencionados foram preparados na fábrica de rações existente na Secção de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia. Após o fabrico de cada tipo de alimento foi recolhida uma amostra representativa dos lotes para análise da sua composição.

3. Maneio dos pintos

No início do ensaio, dia 0, os pintos do dia foram pesados individualmente e anilhados. Posteriormente 27 pintos foram distribuídos aleatoriamente por cada parque.

A temperatura e a ventilação da sala foram controladas através de registos diários. Estes parâmetros foram ajustados sempre que necessário para manter o bem-estar dos pintos, de acordo com o comportamento dos mesmos e as recomendações da estirpe.

Os comedouros e as linhas de água foram verificados duas vezes por dia e a sua altura ajustada à medida que os pintos cresciam. Os animais foram alimentados *ad libitum* e o alimento adicionado foi sempre registado. No dia 18 foi alterada a alimentação, passando-se para o alimento da fase de crescimento.

A verificação da mortalidade foi efectuada diariamente, sendo recolhidos e pesados todos os animais mortos.

Semanalmente os pintos foram pesados individualmente, para controlo do PV. Nesta mesma altura foi retirado e pesado dos comedouros o excesso de alimento, para posterior cálculo da ingestão alimentar semanal. No dia da alteração do alimento de iniciação para o alimento de crescimento foi também efectuada a pesagem dos

pintos e do excesso de alimento dos comedouros, para cálculo da ingestão alimentar das diferentes fases.

Ao vigésimo primeiro dia do ensaio, foram abatidos os dois animais mais pesados de cada parque por atordoamento com 90 V e posterior deslocamento cervical. Destes animais foi recolhido o conteúdo do duodeno+jejuno e do íleo para análise da viscosidade. No fim do ensaio, dia 35, foram também abatidos, da mesma forma, os dois animais mais pesados de cada parque. Destes animais foi recolhido o conteúdo do duodeno+jejuno e do íleo para análise da viscosidade e registado o peso do papo, moela, fígado, pâncreas, duodeno, jejuno, íleo, cecos e o comprimento do duodeno, jejuno, íleo e cecos.

4. Procedimentos analíticos

Antes do início do ensaio foram analisadas as amostras dos lotes do alimento composto preparado, para se verificar os valores matéria seca, cinza, energia bruta e proteína bruta. Na determinação da MS pesou-se uma cápsula e nela colocou-se um mínimo de 1 g (+ 0,1 mg) de amostra sem exceder mais de 2/3 da mesma. A amostra secou até peso constante numa estufa a 103 °C durante a noite (cerca de 16 horas). Após este período a amostra foi colocada num exsicador para arrefecer. Posteriormente foi pesada a cápsula e retirado o peso da matéria seca. Para a determinação da cinza utilizou-se a mesma cápsula com a amostra da determinação da matéria seca. A amostra foi incinerada a 550 °C na mufla durante um mínimo de 3 horas, controlando-se de modo a se obter uma cinza branca. Após a incineração a amostra foi transferida para a estufa pré-aquecida a 103 °C durante uma hora. Posteriormente a amostra foi colocada num exsicador para arrefecer e pesada após atingir a temperatura ambiente. Na determinação da energia bruta 1 g (+ 0,1 mg) da amostra do alimento foi colocada num calorímetro *PARR 1261* até à sua combustão total. A proteína bruta foi determinada através do método de Kjeldahl semi-automático. Pesou-se 1 g da amostra, que foi posteriormente colocada num tubo de digestão. A digestão foi efectuada num digestor *2020 FOSS Tecator*, a 400 °C durante 60 minutos com Kjeltabs Cu/35 como catalisador. Seguidamente a amostra foi destilada com hidróxido de sódio (NaOH 40 %) e posteriormente efectuada uma titulação com ácido clorídrico (HCl 0,1 -0,2 N). Após a titulação foi calculada a proteína bruta através da seguinte fórmula (Figura 6).

$$PB = Azoto \times 6,25 = \left(\frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0,014 \times 100}{M} \right) \times 6,25$$

Legenda: V1 – Volume do ácido usado na titulação

V0 – volume de ácido usado no ensaio em branco

N – Normalidade do HCl

M – toma da amostra

Figura 6: Fórmula para a determinação da proteína bruta

Após o abate dos frangos foi determinada a viscosidade das amostras do conteúdo digestivo recolhido. As amostras previamente recolhidas em tubos de centrífuga foram centrifugadas a 1000 rpm durante 10 minutos. Do sobrenadante obtido foi medida a viscosidade, a 6 rpm, com um viscosímetro *Brookfield viscometer (Model LVDVCP-II)*, *Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA*.

5. Análise estatística

A análise estatística foi efectuada recorrendo à análise de variância usando o procedimento *General Linear Models* do programa SAS (SAS, 2001). Médias com valor de F significativas ($P < 0,05$) foram comparadas usando o teste de Duncan. Diferenças entre médias foram consideradas significativas quando $P < 0,05$, e com tendência para serem significativas quando $P < 0,1$.

IV – Resultados

1. Composição dos regimes

Após o fabrico dos tratamentos foi efectuada uma análise da sua composição para se verificar os níveis de energia bruta, matéria seca e proteína bruta. O resultado da análise apresenta-se no Quadro 10.

Quadro 10: Composição dos tratamentos¹ testados

	Iniciação				Crescimento			
	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³
EB ⁴ (kcal/kg)	3946	3911	3876	3936	4079	4036	4010	4020
MS ⁴ (%)	87,6	87,0	87,2	87,5	87,2	87,2	87,3	87,3
Cinza (%)	6,2	6,1	6,4	6,1	5,3	5,4	5,7	5,6
PB ⁴ (%)	21,8	21,2	19,8	20,2	19,2	19,4	19,8	20,2

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

⁴EB – Energia bruta; MS – Matéria seca; PB – Proteína bruta.

2. Mortalidade

A mortalidade deste ensaio foi de 3,4 % e não foi influenciada pelos diferentes tratamentos (Quadro 11).

Quadro 11: Número de frangos mortos alimentados com os diferentes tratamentos¹, para os períodos de iniciação e crescimento

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³
Iniciação				
0 – 18d	3	3	5	5
Crescimento				
19 – 35d	3	1	1	1

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

3. Peso vivo

Aos dias 0, 7, 14, 18, 21, 28 e 35 do ensaio o PV dos frangos foi determinado pela pesagem individual dos mesmos. As médias do PV referentes aos quatro tratamentos encontram-se expressas no Quadro 12.

Quadro 12: Peso vivo dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹ (g/ave).

	<i>CP</i>	<i>CN</i>	<i>CN+A</i> ²	<i>CN+R</i> ³	<i>SEM</i>	<i>p(F)</i>
Dia 0	48	49	48	48	0,14	0,4241
Dia 7	150 ^b	156 ^a	155 ^a	153 ^{ab}	0,72	0,0198
Dia 14	445 ^a	444 ^a	426 ^b	443 ^a	2,09	0,0034
Dia 18	640	645	656	655	2,83	0,1314
Dia 21	907	923	909	930	3,88	0,1191
Dia 28	1480	1477	1477	1481	6,13	0,9913
Dia 35	2178	2182	2190	2219	9,34	0,3940

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Não se verificaram diferenças significativas no PV dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos, excepto nos dias 7 e 14. No dia 7 verificou-se que o PV dos frangos alimentados com o tratamento CP foi inferior ao PV dos frangos alimentados com os tratamentos CN e CN+A, contudo o PV dos frangos alimentados com o tratamento CN+R não foi significativamente diferente comparativamente aos restantes tratamentos. No dia 14 os frangos alimentados com o tratamento CN+A demonstraram um PV inferior aos restantes tratamentos.

4. Ganhos médios de peso

Os ganhos médios de peso determinados para cada semana do ensaio são apresentados no Quadro 13.

Quadro 13: Ganhos de peso semanais dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹ (g/ave).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Semanais						
0 – 7d	102 ^b	107 ^a	107 ^a	105 ^{ab}	0,69	0,0220
7 – 14d	295 ^a	288 ^a	271 ^b	290 ^a	1,55	<0,0001
14 – 21d	461 ^b	479 ^a	483 ^a	486 ^a	2,19	0,0002
21 – 28d	588 ^a	565 ^b	580 ^{ab}	567 ^b	3,26	0,0407
28 – 35d	698 ^b	706 ^b	713 ^{ab}	734 ^a	4,41	0,0257
Iniciação						
0 – 18d	592	597	608	603	2,90	0,2304
Crescimento						
19 – 35d	1547	1545	1542	1566	7,93	0,7161

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes (P<0,05).

No período dos 0 aos 7 dias, os ganhos médios de peso alcançados pelos frangos alimentados com os tratamentos CN e CN+A foram superiores aos alcançados pelos frangos alimentados com o tratamento CP. Dos 7 aos 14 dias, os frangos alimentados com o tratamento CN+A apresentaram ganhos médios de peso inferiores quando comparados com os restantes tratamentos. No período dos 14 aos 21 dias, os frangos alimentados com o tratamento CN, CN+A e CN+R obtiveram ganhos médios superiores aos alcançados pelos frangos alimentados com o tratamento CP. Dos 21 aos 28 dias, os frangos alimentados com o tratamento CP alcançaram ganhos médios superiores aos obtidos pelos frangos alimentados com os tratamentos CN e CN+R. Dos 28 aos 35 dias, os frangos alimentados com os tratamentos CN+R apresentaram ganhos médios superiores comparativamente aos tratamentos CP e CN.

Apesar das variações semanais apuradas, não se verificaram diferenças significativas entre tratamentos nos ganhos de peso nos períodos dos 0 aos 18 dias (Iniciação) e dos 19 aos 35 dias (Crescimento), quando comparados os diferentes tratamentos.

5. Alimento ingerido

O alimento ingerido pelos frangos foi determinado através da pesagem do excesso de alimento que restava nos comedouros no dia das pesagens dos animais. No Quadro 14 encontra-se expressa a quantidade de alimento ingerido pelos frangos durante o ensaio.

Quadro 14: Ingestão semanal dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹ (g/ave).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Semanais						
0 – 7d	131	134	137	136	1,06	0,2984
7 – 14d	416	420	428	426	2,33	0,2069
14 – 21d	686 ^b	678 ^b	723 ^a	692 ^b	4,77	0,0009
21 – 28d	993	963	983	973	4,70	0,1154
28 – 35d	1268	1283	1272	1301	10,89	0,7325
Total						
0 – 35d	3494	3478	3542	3529	16,47	0,5128
Iniciação						
0 – 18d	854	861	903	883	9,62	0,2807
Crescimento						
19 – 35d	2640	2617	1618	2645	12,65	0,8148

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes (P<0,05).

A ingestão de alimento não foi significativamente diferente entre tratamentos, excepto no período dos 14 aos 21 dias, em que o alimento ingerido pelos frangos sujeitos ao tratamento CN+A foi superior relativamente aos restantes tratamentos.

Nos períodos dos 0 aos 18 dias, dos 19 aos 35 dias e dos 0 aos 35 dias não se verificaram diferenças significativas no alimento ingerido pelos frangos sujeitos aos vários tratamentos.

6. Índice de conversão

O IC corresponde à razão entre o alimento ingerido pelo animal e o aumento de peso. No Quadro 15 apresentam-se os IC alcançados durante o ensaio.

Quadro 15: Índice de conversão dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹.

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Semanais						
0 – 7d	1,34	1,30	1,31	1,34	0,011	0,3978
7 – 14d	1,44 ^c	1,48 ^{bc}	1,60 ^a	1,51 ^b	0,010	<0,0001
14 – 21d	1,51 ^a	1,43 ^b	1,52 ^a	1,44 ^b	0,007	<0,0001
21 – 28d	1,72	1,73	1,73	1,76	0,012	0,6191
28 – 35d	1,85	1,89	1,82	1,88	0,028	0,8273
Total						
0 – 35d	1,66	1,65	1,68	1,65	0,008	0,7077
Iniciação						
0 – 18d	1,46	1,46	1,50	1,48	0,008	0,2925
Crescimento						
19 – 35d	1,73	1,72	1,72	1,72	0,011	0,9843

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{abc}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes (P<0,05).

Não se verificaram diferenças significativas no IC entre tratamentos, à excepção dos períodos dos 7 aos 14 dias e dos 14 aos 21 dias. Dos 7 aos 14 dias, o IC foi superior nos frangos alimentados com o tratamento CN+A, relativamente aos restantes tratamentos. No entanto, nesse período, o IC dos frangos alimentados com o tratamento CN+R foi superior comparativamente ao tratamento CP. No período dos 14 aos 21 dias, os frangos alimentados com os tratamentos CN e CN+R alcançaram um IC inferior ao dos frangos alimentados com os tratamentos CP e CN+A.

Considerando o período total do ensaio, dos 0 aos 35 dias, não se verificaram diferenças significativas no IC entre os vários tratamentos. O mesmo foi verificado no IC para os períodos dos 0 aos 18 dias (Iniciação) e dos 19 aos 35 dias (Crescimento).

7. Viscosidade do conteúdo digestivo

Aos 21 dias de idade dois frangos por parque foram abatidos, dos quais foi recolhido o conteúdo digestivo para determinação da viscosidade por leitura directa no viscosímetro. No Quadro 16 encontram-se expostos os valores da viscosidade obtidos e na Figura 7 apresentam-se a representação dos mesmos.

Quadro 16: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 21 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos¹ (cpo).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Duodeno + jejuno	3,34 ^a	3,41 ^a	2,68 ^b	2,70 ^b	0,09	0,0004
Íleo	6,47 ^a	6,54 ^a	4,61 ^b	6,47 ^a	0,33	0,0934

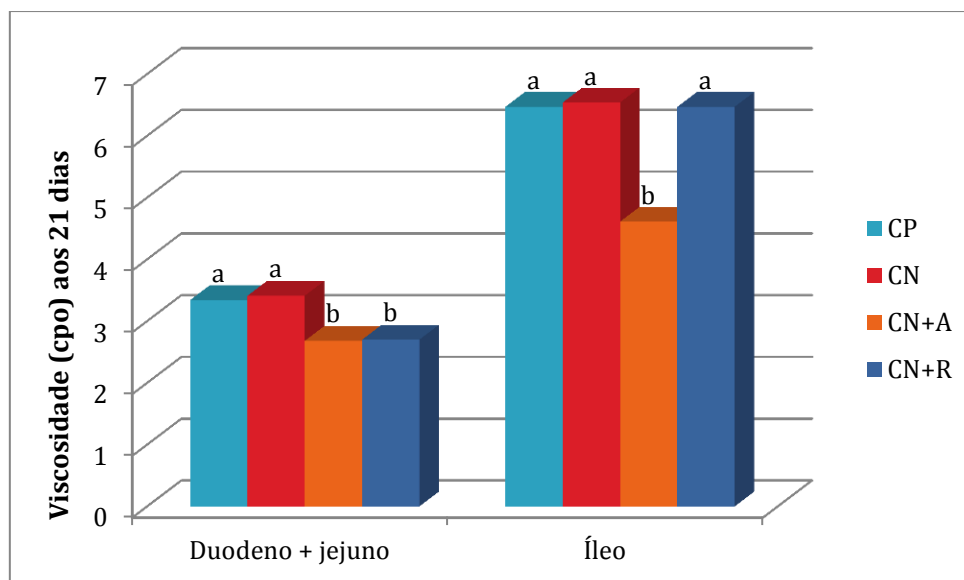
¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes (P<0,05).

Figura 7: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 21 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos¹ (cpo).



¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

Nos frangos alimentados com os tratamentos CN+A e CN+R foi verificado que o conteúdo digestivo do duodeno+jejuno era menos viscoso, comparativamente aos

restantes tratamentos. A viscosidade no íleo dos frangos alimentados com o tratamento CN+A foi inferior à dos restantes tratamentos.

Aos 35 dias foram igualmente abatidos dois frangos por parque, tendo sido recolhido o conteúdo digestivo dos mesmos para determinação da viscosidade por leitura directa no viscosímetro. No Quadro 17 apresentam-se os valores da viscosidade obtidos e na Figura 8 apresenta-se a representação dos mesmos.

Quadro 17: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 35 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos¹ (cpo).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Duodeno + jejuno	2,58 ^b	3,28 ^a	2,10 ^b	2,60 ^b	0,12	0,0057
Íleo	5,41 ^{ab}	6,62 ^a	3,59 ^b	5,38 ^{ab}	0,38	0,0391

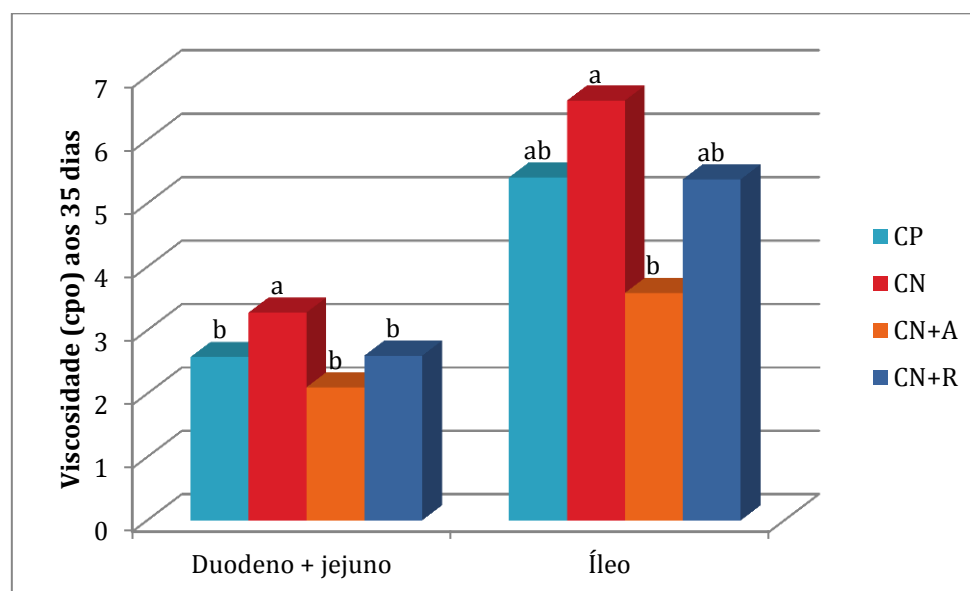
¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativamente diferentes (P<0,05).

Figura 8: Viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos, aos 35 dias de idade, sujeitos aos diferentes tratamentos¹ (cpo).



¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

No duodeno+jejuno a viscosidade foi superior nos frangos alimentados com o tratamento CN, comparativamente com os restantes tratamentos. A viscosidade no íleo dos frangos alimentados com o tratamento CN+A foi inferior à dos frangos alimentados com o tratamento CN, contudo não foram significativamente diferentes da dos frangos alimentados com os tratamentos CP e CN+R.

8. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo

Após recolhido o conteúdo digestivo dos frangos abatidos aos 35 dias foi registado o peso do papo, moela, fígado, pâncreas, duodeno, jejuno, íleo, cecos e o comprimento do duodeno, jejuno, íleo e cecos.

No Quadro 18 apresentam-se os pesos relativos dos órgãos do sistema digestivo.

Quadro 18: Peso relativo dos órgãos do sistema digestivo aos 35 dias de idade dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹ (g/kg).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Papo	2,13	2,45	2,42	2,36	0,08	0,4461
Moela	13,22	14,22	14,63	13,59	0,21	0,0820
Fígado	24,35	22,87	23,64	22,41	0,42	0,3895
Pâncreas	2,68	2,45	2,70	2,49	0,05	0,1741
Duodeno	4,97	4,62	4,81	5,06	0,11	0,5029
Jejuno	10,62	10,29	10,11	10,44	0,19	0,8261
Íleo	9,40 ^{ab}	8,26 ^b	8,26 ^b	9,68 ^a	0,22	0,0307
Cecos	3,45	3,64	4,31	4,07	0,17	0,2510

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativas diferentes (P<0,05).

Não foram verificadas diferenças significativas, entre os diferentes tratamentos, no peso relativo do papo, moela, fígado, pâncreas, duodeno, jejuno e cecos. O peso relativo do íleo dos frangos alimentados com o tratamento CN+R foi significativamente superior ao valor registado do peso relativo do íleo dos frangos sujeitos aos tratamentos CN e CN+A.

No Quadro 19 encontra-se expresso o comprimento do duodeno, jejuno íleo e cecos.

Quadro 19: Comprimento relativo dos órgãos do sistema digestivo aos 35 dias de idade dos frangos alimentados com os diferentes tratamentos¹ (cm/kg).

	CP	CN	CN+A ²	CN+R ³	SEM	p(F)
Duodeno	12,10	11,97	12,33	12,13	0,17	0,9128
Jejuno	31,41	30,07	30,72	28,92	0,46	0,2697
Íleo	32,84	30,69	30,42	31,49	0,64	0,5528
Cecos	7,18	7,00	7,42	7,05	0,11	0,5692

¹Tratamentos consistiam no controlo positivo (CP), controlo negativo (CN), controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial A (CN+A) e controlo negativo suplementado com a mistura enzimática comercial R (CN+R).

²Mistura enzimática comercial A, com actividade mínima garantida de 12200 U/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

³Mistura enzimática comercial R, com actividade mínima garantida de 1400 AXC/g de endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8) e de 2000 AGL/g de 1520 U/g de endo-1,3(4)-glucanase (EC 3.2.1.6).

^{ab}Valores com a mesma letra na mesma linha não são significativas diferentes (P<0,05).

O comprimento relativo do duodeno, jejuno, íleo e ceco não foi significativamente diferente entre tratamentos.

V – Discussão

O presente estudo foi realizado com o objectivo de avaliar os efeitos da suplementação, de dietas à base de milho, trigo e cevada, com misturas de xilanase e glucanase, nos índices produtivos, na viscosidade do conteúdo digestivo e nas dimensões do sistema digestivo de frangos de carne.

Os PNA solúveis dos cereais aumentam a viscosidade do conteúdo digestivo, dificultando o contacto entre os nutrientes e as enzimas digestivas e consequentemente a absorção de nutrientes no intestino é reduzida (Marquardt et al., 1996; Cowieson et al., 2006). Assim, o crescimento é afectado negativamente, obtendo-se frangos com baixos PV e ganhos de peso. A adição de enzimas exógenas que degradem os PNA contraria estes efeitos. Os PNA são degradados e a viscosidade do conteúdo digestivo diminui, o que facilita o contacto entre as enzimas digestivas e os nutrientes e a absorção dos nutrientes pelo intestino (Marquardt et al., 1996; Yu et al., 2002; Cowieson et al., 2006). Por conseguinte, o crescimento dos frangos é melhorado. Assim, os animais alimentados com as dietas suplementadas com enzimas exógenas devem alcançar PV e ganhos de peso superiores aos dos frangos alimentados com dietas não suplementadas.

No presente estudo, e com excepção do dia 7 e do dia 14, não foram detectadas diferenças significativas no PV entre os tratamentos. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Esteve-Garcia et al. (1997), no qual a adição de xilanase em dietas à base de trigo não levou a diferenças significativas entre os tratamentos nos PV aos 21 e 42 dias de idade. O mesmo foi verificado também aos 42 dias de idade, quando se suplementaram dietas à base de cevada com glucanase (Esteve-Garcia et al., 1997). Por outro lado Ribeiro et al. (2012) obtiveram frangos com PV mais elevados quando alimentados com dietas à base de cevada suplementadas com glucanase, comparativamente aos frangos alimentados com dietas não suplementadas. Bergh et al. (1999) também verificaram que o PV aos 9 e aos 13 dias foi superior quando a dieta à base de cevada era suplementada com xilanase e glucanase em comparação com a dieta que não era suplementada com estas enzimas. No entanto, os resultados apresentados relativamente ao PV do presente estudo mostram que, no dia 7, o peso dos frangos alimentados com o tratamento CP foi inferior ao do tratamento CN. Contrariamente ao observado, era esperado que os frangos alimentados com o tratamento CP obtivessem um PV superior, uma vez que o tratamento CP possui um nível energético mais elevado que o tratamento CN. Esta

diferença pode estar relacionada com o período de adaptação dos pintos ao espaço ou com outras variáveis que não se encontravam dentro do nosso controlo. No dia 14 os frangos cuja dieta foi suplementada com a mistura enzimática A obtiveram um PV ligeiramente inferior aos restantes tratamentos, também dificilmente explicável pelas variáveis controladas durante o estudo. No entanto, verificou-se que os frangos compensaram rapidamente estas perdas de peso.

Relativamente aos resultados obtidos para os ganhos de peso, verificou-se que dos 28 aos 35 dias de idade os frangos alimentados com o tratamento CN+R obtiveram ganhos de peso superiores comparativamente aos restantes tratamentos, o que está de acordo com o esperado com a adição de enzimas exógenas. Cowieson et al. (2010), mostraram que com a suplementação de xilanase e glucanase em dietas à base de milho e soja obtiveram-se frangos com ganhos de peso mais elevados, comparativamente aos frangos alimentados com dietas não suplementadas, no período dos 0 aos 21 dias. Contudo, no período de crescimento, dos 21 aos 42 dias de idade, os mesmos autores não verificaram diferenças significativas entre os tratamentos suplementados com as duas enzimas e os tratamentos não suplementados. Já Gao et al. (2008) verificaram aumentos dos ganhos de peso nos períodos de iniciação, dos 7 aos 21 dias, e de crescimento, dos 22 aos 49 dias, quando se suplementaram dietas à base de trigo com xilanase. Por outro lado Yu et al. (2002) referem que a suplementação enzimática de glucanase em dietas à base de em cevada não teve influência nos ganhos de peso nos períodos de iniciação, dos 0 aos 21 dias, e de crescimento, dos 22 aos 35 dias de idade.

A presença de arabinoxilanos e β -glucanos nas dietas provoca o aumento da viscosidade do conteúdo digestivo, o abrandamento do trânsito digestivo e consequentemente a diminuição da ingestão de alimento (Marquardt et al, 1996). A suplementação de xilanase e glucanase, como já previamente estabelecido, reduz a viscosidade do conteúdo intestinal e acelera o trânsito digestivo, portanto espera-se que os frangos alimentados com dietas suplementados com as misturas enzimáticas apresentem ingestões de alimento mais elevadas. Contudo apenas se verificaram diferenças significativas na ingestão de alimento do período dos 14 aos 21 dias. Neste período, a ingestão do alimento foi superior nos frangos alimentados com o tratamento CN+A, comparativamente aos restantes tratamentos. Aos 21 dias foi verificada uma redução da viscosidade do conteúdo digestivo no duodeno, jejuno e íleo dos frangos alimentados com o tratamento CN+A, o que terá provocado o aumento da rapidez do trânsito digestivo e consequentemente o aumento da ingestão do alimento.

Os PNA presentes no endosperma dos grãos de cereais provocam um aumento da viscosidade do conteúdo digestivo e por isso a ave gasta mais energia na extração dos nutrientes da dieta, o que pode prejudicar o IC (Bedford e Schulze, 1998). Um dos efeitos da suplementação enzimática com xilanase e glucanase é a melhoria do IC (Marquardt et al., 1996). Assim, esperava-se que o IC dos frangos alimentados com as dietas não suplementadas com as misturas enzimáticas fosse superior ao dos frangos alimentados com as dietas suplementadas. Com exceção dos 7 aos 14 e dos 14 aos 21 dias, o IC semanal dos frangos não foi significativamente diferente entre tratamentos. Verificou-se mesmo que não houve diferenças significativas entre o IC dos frangos relativamente ao período de iniciação, de crescimento e total. Yu et al. (2002) não verificaram diferenças significativas no IC, quando se suplementou dietas à base de cevada com glucanase, nos períodos de iniciação, dos 0 aos 21 dias, e de crescimento, dos 22 aos 35 dias. Por outro lado, segundo Cowieson et al. (2010), a suplementação de xilanase e glucanase em dietas à base de milho e soja melhoraram o IC dos frangos. No presente estudo, dos 7 aos 14 dias e dos 14 aos 21 dias de idade, os resultados do IC foram variáveis e pouco conclusivos. O IC, dos 7 aos 14 dias de idade, dos frangos alimentados com o tratamento suplementado com a mistura enzimática A foi superior relativamente aos restantes tratamentos. Este elevado IC pode estar relacionado com o baixo ganho de peso que os frangos alimentados com este tratamento obtiveram no mesmo período. No período dos 14 aos 21 dias, os frangos alimentados com os tratamentos CP e CN+A obtiveram um IC mais elevado que os frangos alimentados com os tratamentos CN e CN+R. É de salientar que nestes dois períodos, os frangos alimentados com o tratamento suplementado com a mistura enzimática R obtiveram melhores IC, o que pode sugerir que os frangos respondem melhor à mistura enzimática R em comparação com a mistura A.

Relativamente aos índices produtivos não foram verificadas diferenças significativas entre tratamentos no PV, ingestão de alimento e IC dos frangos nos períodos de iniciação e crescimento. O elevado nível de incorporação de milho nos regimes alimentares do presente estudo poderão justificar a falta de diferenças entre tratamentos, uma vez que este cereal apresenta níveis de PNA reduzidos em comparação com o trigo ou a cevada.

Os efeitos da elevada viscosidade do conteúdo digestivo no crescimento dos frangos estão já bem documentados (Marquardt et al., 1996; Bedford, 1996a e b;

Steenfeldt et al., 1998a; Lesson e Summers, 2001; Yu et al, 2002; Gao et al, 2008). A presença de PNA na dieta provoca uma grande retenção de água no intestino, tornando o conteúdo digestivo viscoso. A elevada viscosidade do conteúdo digestivo reduz o contacto entre os nutrientes da dieta e as enzimas digestivas endógenas e consequentemente a absorção dos nutrientes na dieta (Marquardt et al., 1996; Yu et al., 2002; Gao et al., 2008). Por outro lado a elevada viscosidade reduz a velocidade da passagem do conteúdo digestivo, podendo alterar assim a distribuição da microflora intestinal (Bedford et al., 1996a e b; Bedford e Schulze, 1998). O aumento da viscosidade leva a que os nutrientes que seriam absorvidos nos segmentos mais anteriores do intestino passem a estar disponíveis nos segmentos posteriores, o que consequentemente, poderá levar a uma proliferação da microflora prejudicial aí existente (Bedford et al., 1996a e b). Assim a redução da viscosidade do conteúdo digestivo tem sido considerada a principal função das enzimas exógenas (Brenes et al, 1993). A adição de enzimas exógenas às dietas com altos níveis de PNA leva à redução da viscosidade do conteúdo digestivo, resultando no aumento da eficiência da digestão e da absorção dos nutrientes (Marquardt et al., 1996; Choct et al., 2006). Esta melhoria na disponibilidade dos nutrientes para a ave levará a uma alteração na microflora intestinal, nomeadamente a diminuição da proliferação de microrganismos patogénicos (Bedford e Cowieson, 2012).

Após o período de iniciação e no fim do ensaio, aos 21 e aos 35 dias, respectivamente, foi determinada a viscosidade do conteúdo digestivo no duodeno+jejuno e no íleo. Verificou-se que a viscosidade no duodeno e jejuno foi reduzida nos frangos alimentados com os tratamentos suplementados com as misturas enzimáticas A e R em comparação com o controlo negativo. No íleo a viscosidade, aos 21 e 35 dias, foi reduzida nos frangos alimentados com o tratamento suplementado com a mistura enzimática A. Estes resultados estão de acordo com estudos já existentes sobre a suplementação de xilanase ou glucanase em dietas à base de trigo ou cevada, respectivamente. Segundo Steenfeldt et al. (1998a) a adição de xilanase em dietas à base de trigo provoca a redução da viscosidade no jejuno e no íleo aos 21 e aos 42 dias de idade. Gao et al. (2008) verificaram que a viscosidade do conteúdo digestivo no proventrículo e no jejuno aos 21 dias e no colon aos 49 dias foi reduzida quando se adicionou xilanase em regimes alimentares à base de trigo. Yu et al. (1998) verificaram reduções na viscosidade do conteúdo digestivo no duodeno aos 21 e aos 49 dias de idade, quando dietas à base de cevada foram suplementadas com glucanase. Por sua vez, Ribeiro et al. (2012) verificaram que a adição de glucanase

numa dieta à base de cevada reduz a viscosidade do conteúdo digestivo no duodeno, jejuno e íleo aos 28 dias de idade.

Está já estabelecido que os PNA aumentam a viscosidade do conteúdo digestivo e inibem o contacto entre as enzimas digestivas e o respectivo substrato, provocando o aumento das secreções dos sucos digestivos pelos órgãos do sistema digestivo e pelas glândulas anexas e o aumento da altura das vilosidades intestinais (Bedford, 1996a e b; Bedford e Schulze, 1998). Isto leva a um aumento das dimensões dos órgãos do sistema digestivo, do pâncreas e do fígado (Marquardt et al., 1996; Bedford, 1996b; Wang et al., 2005). Brenes et al. (1993) indicam que este aumento das dimensões dos órgãos do sistema digestivo pode ser uma resposta adaptativa a uma necessidade crescente de enzimas. A adição das enzimas exógenas diminui o grau de polimerização dos PNA, o que reduz a viscosidade do conteúdo digestivo e poderá atenuar a função secretória dos órgãos do sistema digestivo e das glândulas anexas e consequentemente diminuir o tamanho dos órgãos do sistema digestivo (Wang et al., 2005). Segundo Brenes et al. (1993) esta diminuição do tamanho dos órgãos do sistema digestivo levará ao aumento do rendimento da carcaça, o que traz um benefício do ponto de vista económico. No entanto, no presente estudo, o peso relativo do papo, moela, fígado, pâncreas, duodeno, jejuno e ceco e o comprimento relativo do duodeno, jejuno, íleo e ceco não foram significativamente diferentes entre tratamentos. Apenas se verificou que o peso relativo do íleo dos frangos alimentados com o tratamento suplementado com a mistura enzimática R foi superior ao dos frangos que consumiram o tratamento suplementado com a mistura enzimática A.

As misturas enzimáticas A e R, de acordo com os resultados, reduziram a viscosidade do conteúdo digestivo, contudo esta redução não foi suficiente para alterar as dimensões dos órgãos do sistema digestivo. Segundo Bedford (1996a) para que as alterações nas dimensões do sistema digestivo sejam evidentes são necessários valores extremos de viscosidade, o que pode justificar os resultados obtidos na análise das dimensões dos órgãos do sistema digestivo. Os resultados relativos às dimensões dos órgãos do sistema digestivo podem também estar relacionados com a baixa percentagem de incorporação de trigo e cevada na dieta (10 % e 5 %, respectivamente) e a elevada percentagem de incorporação de milho (> 40 %), que na sua constituição possui um nível de PNA inferior ao do trigo e da cevada. Os efeitos da suplementação enzimática são mais pronunciados quando a inclusão dos ingredientes alvo das enzimas aumenta, uma vez que o conteúdo em factores antinutricionais aumenta proporcionalmente, aumentando também a viscosidade dos conteúdos digestivos no intestino (Bedford 1996a; Marquardt et al., 1996; Ravindran, 2010). Outra

justificação pode ser o baixo nível de inclusão das misturas enzimáticas A e R na formulação das dietas. Uma inclusão mais elevada das misturas enzimáticas pode aumentar a magnitude das respostas das aves e a redução dos efeitos antinutricionais dos cereais. Torna-se assim importante a realização de mais estudos para comprovar os resultados obtidos.

VI – Conclusão

Os regimes alimentares dos tratamentos do presente estudo foram formulados com milho, trigo e cevada. A suplementação com misturas enzimáticas comerciais de xilanase e glucanase resultou em reduções significativas na viscosidade do conteúdo digestivo dos frangos. No entanto esta diminuição da viscosidade não foi suficiente para se verificarem melhorias evidentes nos índices produtivos e nas dimensões dos órgãos do sistema digestivo.

Para que as misturas enzimáticas sejam efectivamente utilizadas pelos produtores avícolas é importante que se obtenham resultados positivos nos índices zotécnicos, tais como o peso vivo e o índice de conversão. Tais resultados não foram verificados no presente estudo. No entanto, o facto de se ter mostrado que houve uma melhoria na viscosidade do conteúdo digestivo, leva a crer que existe fundamento para uma eventual possível melhoria do crescimento dos frangos submetidos a este tipo de regimes alimentares suplementados com misturas enzimáticas.

Assim, sugere-se que trabalhos similares a este sejam repetidos, nos quais se varie a quantidade de incorporação de enzimas e a relação entre os cereais utilizados nos regimes alimentares.

VII – Referências Bibliográficas

- Afonso, J., 2005. Texto de apoio para as aulas de Fisiologia I sobre a anatomia das aves, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
- Aviagen, 2009. ROSS Broiler Management Manual, Scotland.
- Bedford, M.R., 1996a. Interaction between ingested feed and digestive system in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 5:86-96.
- Bedford, M.R., 1996b. The effect of enzymes on digestion. *Journal of Applied Poultry Research*, 5:370-378.
- Bedford, M.R., 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*, 86:1-13.
- Bedford, M.R., Cowieson, A.J., 2012. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Animal Feed Science and Technology*, 173:76-85.
- Bedford, M.R., Schulze, H., 1998. Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews*, 11:91-114.
- Bergh, M.O., Razdan, A., Åman, P., 1999. Nutricional influence of broiler chicken diets based on covered normal, waxy and high amylose barleys with or without enzyme supplementation. *Animal Feed Science and Technology*, 78:215-226.
- Blas, C., Mateos, G.G., Garcia-Rebollar, P., 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, FEDNA, Madrid.
- Brenes, A.M.S., Smith, M., Guenter, W., Marquardt, R.R., 1993. Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat- and barley-based diets. *Poultry Science*, 72:1731-1739.
- Campbell, G.L., 1993. Utilización de enzimas en granos de cereales: fitases, glucanasas y pentosanasas. IX Curso de Especialización FEDNA, Barcelona.
- Chambers, J.R., 1990. Genetics of growth and meat production in chickens. In *Poultry Breeding and Genetics*. Editado por R.D. Crawford, Elvisier, Canada, pp 599-643.

- Choct, M., 2006. Enzymes for the feed industry: past, present and future. *World's Poultry Science Journal*, 62:5-15.
- Classen, H.L., Stevens, J.P., 1995. Nutrition and Growth. In *World Animal Science – Poultry Production*. Editado por P. Huntoun, Elviesier, Ontário, Canada, pp 79-99.
- Cowieson, A.J., Bedford, M.R., Ravindran, V., 2010. Interactions between xylanase and glucanase in maize-soy-based diets for broilers. *British Poultry Science*, 51:2, 246-257.
- Cowieson, A.J., Hruby, M., Pierson, E.E.M., 2006. Evolving enzyme technology: impact on comercial poultry production. *Nutrition Research Reviews*, 19:90-103
- Dutra, D.G., 2005. Fisiologia do sistema digestivo das aves. In *Aves e Ovo*. Editado por Sousa-Soares, L.A., Siewertt, F., Universidade de Pelotas, Brasil. Pp 131-135.
- Englert, S., 1982. *Avicultura*, Livraria e Editora Agropecuária Ltda, Porto Alegre, Brasil, pp 36-37.
- Esteve-Garcia, E., Brujau, J., Pérez-Vendrell, A., Miquel, A., Duven, K., 1997. Bioefficacy of enzymes preparations containing glucanase and xylanase activities in broilers diets based on barley or wheat, in combination with flavomycin. *Poultry Science* 76:1728-1737.
- Francesch, M., 1996. Bases de la utilización de complejos enzimáticos en avicultura. XII Curso de Especialización FEDNA, Madrid.
- Gao, F., Jiang, Y., Zhou, G.H., Han, Z.K., 2008. The effects of xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 142:173-184.
- Hunton, P., 1990. *Industrial Breeding and Selection*. Editado por R.D. Crawford, Elviesier, Canadá, pp 985-1028.
- Larbier, M., Leclercq, B., 1994. *Nutrition and Feeding of Poultry*, Nottingham University Press, Leicestershire, pp. 15-23, 223-230.
- Lázaro, R. Mateos, G.G., 2008. Necesidades nutricionales para avicultura: pollos de carne y aves de puesta, Normas FEDNA, pp 3-25.

- Leeson, S., Summers, J. D., 2001. Nutrition of the Chicken, University Books, Canada, pp 1-7, 432-436, 473-495.
- Marquardt, R.R., Brenes, A., Zhang, Z., Boros, D., 1996. Use of enzymes to improve nutriente availability in poultry feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 60:321-330.
- Marks, L.H., 1995. Genetics of Growth and Development. In *World Animal Science – Poultry Production*. Editado por P. Huntoun Elviesier, Ontário, Canada, pp 157-188.
- Marques, M., 1965. Galinhas e Ovos – Sua criação e Aproveitamento, Livraria Classica Editora, Lisboa, pp. 77-80
- Mateos, G.G., Lázaro, R., Gracia, M.I., 2002. Modificaciones nutricionales y problemática digestiva en aves. XVIII Curso de Especialización FEDNA, Barcelona.
- Mathlouthi, N., Juin, H., Larbier, M., 2003a. Effect of xylanase and beta-glucanase supplementation of wheat- or wheat- and barley-based diets on the performance of male turkeys. *British Poultry Science*, 44:291-298
- Mathlouthi, N., Mohamed, M.A., Larbier, M., 2003b. Effect of enzyme preparation containing xylanase and beta-glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley- or maize/soybean meal-based diets. *British Poultry Science*, 44:60-66
- Mourão, J.L., Ponte, P.I.P., Prates, J.A.M. Centeno, Ferreira, L.M.A., Soares, M.A.C., Fontes, M.G.A., 2006. Use of glucanases and β -1,4-xylanases to supplement diets containing Alfafa and rye for laying Hens: Effect on bird performance and egg quality. *Journal of Applied Poultry Research*, 15:256-265.
- NRC (1994). Nutrient Requirements of Poultry, 9ª Edição, National Academy Press, Washington, DC.
- Ravindran, V., 2010. Aditivos en alimentación animal: presente e futuro. XXVI Curso de Especialización FEDNA, Madrid.
- Ribeiro, T., Lordelo, M.M.S., Prates, J.A.M., Falcão, L., Freire, J.P.B., Ferreira, L.M.A., Fontes, C.M.G.A., 2012. The thermostable β -1,3-1,4-glucanase from

- Clostridium thermocellum* improves the nutritive value of highly viscous barley-based diets for broilers. *British Poultry Science* 53:2:224-234
- Rosen, G., 2002. Exogenous enzymes as pro-nutrients in broilers diets. In *Recent Advances in Animal Nutrition*. Editado por P.C. Garnsworthy e J. Wiseman, Nottingham, UK, pp 89-104
- Rotter, B.A., Freisen, O.D., Gunter, W., Marquardt, R.R., 1990. Influence of enzyme on the bioavailable energy of barley. *Poultry Science*, 69:1174-1181.
- Salih, M.E., Classen, H.L., Campbell, G.L., 1991. Response of chickens fed on hull-less barley to dietary glucanase of different ages. *Animal Feed Science and Technology*, 33, 139-149.
- Steenfeldt, S., Hammershøj, M., Müllertz, A., Jensen, J.F., 1998a. Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers 1. Effect on growth performance and intestinal viscosity. *Animal Feed Science and Technology*, 75:27-43.
- Steenfeldt, S., Hammershøj, M., Müllertz, A., Jensen, J.F., 1998b. Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers 2. Effect on apparent metabolisable energy content and nutrient digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, 75:45-64.
- Wang, Z.R., Qiao, S.Y., Lu, W.Q., Li, D.F., 2005. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets. *Poultry Science*, 84:875-881.
- Wu, Y.B., Ravindran, V., 2004. Influence of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, digestive tract measurements and carcass characteristics of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 116:129-139.
- Yang, Z.B., Yang, W.R., Jiang, S.Z., Zhang, G.G., Zhang, Q.Q., Siow, K.C., 2010. Effects of a thermotolerant multi-enzyme product on nutrient and energy utilization of broilers fed mash or crumbled corn – soybean meals diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 19:38-45.
- Yin, Y-L, Baidoo, S.K., Sculze, H., Simmins, P.H., 2001. Effects of supplementing diets containing hullless barley varieties having different levels of non – starch

polysaccharides with glucanase and xylanase on physiological status of the gastrointestinal tract and nutrient digestibility of weaned pigs. *Livestock Production Science*, 71:97-107.

Yu, B., Chung, T.K., 2004. Effects of Multiple-Enzyme Mixtures on growth performance of broilers fed corn – soybean meal diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 13:178-182.

Yu, B., Hsu, J.C., Chiou, P.W.S., 1998. Effects of glucanase supplementation of barley diets on growth performance of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 70:353-361.

Yu, B., Sun, Y.M., Chiou, P.W.S., 2002. Effects of glucanase inclusion in a de-hulled barley diet on the growth performance and nutrient digestion of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 102: 35-52.

Yu, B., Wu, S.T., Liu, C.C., Gauthier, R., Chiou, P.W.S., 2007. Effects of enzyme inclusion in a maize-soybean diet on broiler performance. *Animal Feed Science and Technology*, 134:283-294.